Microbiología Española

VOL. IV

N.º 4

MCMLI

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
28 MAR 1955

SUMARIO

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Determinación de la vitamina B_1 (aneurina) mediante test con levadura, por **A. Hidalgo Granados** 139

Transmisión del Beta virus 2 a plantas de Nicotiana tabacum, con un resumen previo de las principales virosis de la remolacha, por **Félix Martínez Cordón** 169

INFORMACION

Actas de la Sociedad 183

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de revistas 185

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERBETEN
EXCHANGE DESIRED

TODA LA CORRESPONDENCIA
DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

Microbiología Española

publicada por el Instituto «Jaime Ferrán»
de Microbiología, del C. S. I. C., y la Sociedad
de Microbiólogos Españoles

CONSEJO DE REDACCION

Prof. Dr. don Arnaldo Socías Amorós, Director del Instituto «Jaime Ferrán», de Microbiología, del C. S. I. C.

Prof. Dr. don Lorenzo Vilas López, Secretario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Dr. don Ricardo Salaya León, Bibliotecario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Vol. IV-MCMLI
MADRID

INDICE DEL VOLUMEN IV

SUMARIO DEL NUM. 1

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Corynebacterium renale, Migula (Pielonefritis bovina), primera comunicación, por **Santos Ovejero del Agua** ... 3

Flora aerobia de la fermentación en el enriado experimental del esparto, por **Vicente Callao** y **José Vigaray** 9

Fusarium sp. sobre *Vicia faba*, por **Camilo Torras Casals** 15

El factor de transformación moho-bacteria, por **A. Socías** y **G. Sierra** 23

De la metilación orgánica como factor de transformación moho-bacteria y su papel en la etiología microbiana del tracoma, por **A. Socías** 33

Sobre la determinación polarográfica del cloramfenicol, por **Gregorio Varela Mosquera** 39

INFORMACION

Profesor Victoriano Coloma y Amarillas (†) 45

Renovación de Directiva 46

Extractos de MICROBIOLOGIA 46

Actas de la Sociedad 47

BIBLIOGRAFIA

Vogel (H.).—1951. Die Antibiótica 49

Indice de artículos de revistas 50

SUMARIO DEL NUM. 2-3

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

La paja de cereales como materia prima para la fabricación de levaduras pienso, por **Ernesto Martínez Díez** 73

Estudio de la actividad de mezclas de antibióticos y quimioterápicos, por **Rafael Ibáñez** y **Gabriel Megías** 85

Procesos químicos y microbiológicos en la fermentación de las aceitunas sevillanas, por **Miguel Martínez, Miguel Romero** y **Lorenzo Monzón** 103

Nuevos síntomas en el Dock Mosaic, causados por el Rumex virus 1, por **Félix Martínez Cordón** 109

INFORMACION

Nuevo representante español en la A. I. M. 115

VI Congreso Internacional de Patología Comparada 115

II Congreso Internacional de Bioquímica 116

Actas de la Sociedad 116

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de revistas 119

SUMARIO DEL NUM. 4

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Determinación de la vitamina B_1 (Aneurina) mediante test con levadura, por **A. Hidalgo Granados** 139

Transmisión del Beta virus 2 a plantas de Nicotiana tabacum, con un resumen previo de las principales virosis de la remolacha, por **Félix Martínez Cordón** 169

INFORMACION

Actas de la Sociedad 183

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de revistas 185

Microbiología Española

publicada por el Instituto «Jaime Ferrán»
de Microbiología, del C. S. I. C. y la Sociedad
de Microbiólogos Españoles

VOL. IV

N.º 4

MCMLI

Gráficas **TEJARIO, S. A.** Pza. del Biombo, 4-Tel. 22 12 88-Madrid

INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA

C. S. I. C.

DETERMINACION DE LA VITAMINA B_1 (ANEURINA) MEDIANTE TEST CON LEVADURA

A. Hidalgo Granados.

Para determinar la aneurina, tiamina o vitamina B_1 en las más diversas substancias, como los productos alimenticios, líquidos fisiológicos, etc., se han descrito varios métodos, siendo más antiguos, usados y conocidos, los test de crecimiento de la rata y de la paloma.

Pero este método, que es, desde luego, muy lento, no puede emplearse en todos los casos y con todas las substancias; lo mismo ocurre con otros métodos biológicos.

Se han usado también como métodos físicoquímicos la medida de la fluorescencia azul del tiocromo (producto obtenido por oxidación de la aneurina) y el método químico, colorimétrico, del nitroformaldehido, etc.

Pero ninguno de estos métodos resulta perfecto ni totalmente satisfactorio desde diversos puntos de vista, ya por la duración de la prueba, ya por lo lo costoso, o por requerir aparatos especiales, y por no ser siempre absolutamente específicos.

Además, los métodos de dosificación química podrían emplearse en un primer examen de la cuestión, pero como exigen dosis relativamente elevadas frente a las mínimas que son suficientes para la vida de los seres vivos, no resultan aplicables, ya que no siempre coinciden las diluiciones a que es forzoso llegar con el ámbito de sensibilidad del proceso.

Para obviar estos inconvenientes, W. H. Schopher propuso un nuevo método, basado en la correlación entre el desarrollo del hongo Phycomyces Blakesleeanus y la concentración en tiamina del medio de cultivo. Las ventajas consisten en ser aplicable en dosis muy pequeñas de vitamina y no exigir experiencias demasiado largas ni las complicaciones de un ensayo de crecimiento de animales de laboratorio, resultando más económico.

Por eso modernamente se han generalizado los test vitamínicos, tratando siempre de simplificar los métodos, dentro de la indispensable precisión en los resultados.

No hace falta encomiar el diferente valor estadístico que tiene una prueba larga y costosa, hecha con un número mayor o menor de animales de la-

boratorio, frente a otra realizada con millones de microorganismos que se hallan en condiciones viables, presumiblemente idénticas.

Por ello a los test con Phycomyces han seguido otros con diversas levaduras y con fermentos lácticos.

Dos principios fundamentales se exigen para la validez de éstos:

1) Conservados constantes todos los factores ambiente capaces de influir en el desarrollo del microorganismo, o el fenómeno observado, el desenvolvimiento de éste o aquél es siempre igual para una determinada concentración de vitamina.

2) La tiamina es el único factor que en estas condiciones puede influir en el desarrollo del fenómeno observado.

A la premura para presentar el trabajo a su debido tiempo cabe atribuir, quizá, algunos errores que involuntariamente se hayan deslizado por no haber concedido la debida atención a algunos puntos, y, por otra parte, es causa de que en otras ocasiones no hayamos podido reiterar las experiencias, como sería nuestro deseo, quedando puntos no tratados o tratados insuficientemente.

Como antecedentes para este trabajo contamos, además de con el ya hecho, con un test con el Phycomyces Blakesleeanus realizado en la citada Escuela E. de Ingenieros Agrónomos, cuando fueron alumnos de ella, por los Sres. Martínez de Sola y Bardem Muñoz, con el que hemos comparado los resultados para ver si el método fermentativo, más rápido, es suficientemente preciso.

Los investigadores A. Schultz, L. Atkin y C. N. Frey iniciaron en Estados Unidos el método de observación de la macrofermentación, y sus trabajos, publicados en las revistas **Journal of Biological Chemistry, Journal American Chemistry Society** e **Industrial Engineering Chemistry,** han sido consultados por el autor de estas líneas en la Biblioteca del Instituto «Alonso Barba», del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

También hemos podido consultar un artículo de Eric. C. Wood sobre la exactitud del método y otro de W. B. Emery N. McLead y F. A. Robinson, más amplio que el nuestro, puesto que se refiere al complejo vitamínico B.

Las comunicaciones de W. H. Schopher consultadas tienen un valor más bien teórico, ya que la parte práctica se refiere sólo al método de Phycomyces.

He aquí un esquema de la labor realizada:

I) Marcha general de las experiencias.
II) Obtención de curvas patrones con levadura de panadería danesa.
III) Ensayos con otras levaduras.
IV) Determinación de la tiamina en las levaduras de panadería (industrial).

V) Determinación de la vitamina B_1 y de la cocarboxilasa separadamente.

VI) Acción de los componentes de la tiamina sobre el test fermentativo y de algunas substancias que pueden interferir.

VII) Determinación de la aneurina en substancias alimenticias y comentario sobre los resultados obtenidos.

VIII) Comparación con el test fermentativo anterior y con el Phycomyces.

I) MARCHA GENERAL DE LAS EXPERIENCIAS

a) Aparato empleado.

La intensidad de la fermentación se ha medido por el volumen de gases (C 02) desprendido por medio de una serie de fermentómetros de Van Iterson y Kluyer.

Su uso es así: Lleno de mercurio todo el aparato hasta que rebase B ligeramente, se introduce por A un volumen mayor del calibrado en C, el cual se conoce exactamente por haber sido previamente medido en cada aparato, ya que no es exactamente igual en todos. (Los fermentómetros los designamos siempre por un número en cada uno, que tienen grabado y que no es el volumen de líquido a fermentar que cabe en cada aparato).

Estando abierta la llave núm. 1, se abre también la núm. 2, poco a poco, para sacar mercurio, con lo que se consigue que se llene c exactamente, hasta el enrase e', que separa el volumen c del tubo graduado. Conseguido esto, se cierra 2 y después 1, siendo necesario que ambos cierres sean herméticos, especialmente 1, para evitar cualquier entrada o escape de gas, y además para que el líquido sobrante que quedó sobre la llave 1 no pueda penetrar a través de ella y falsee el resultado. Es un hecho de experiencia que a través de 2 no se escapa el mercurio, aunque no esté dado con grasa el cierre; pero la llave 1 hay que tenerla perfectamente engrasada, para que sea perfecto el cierre esmerilado 1.

Para tener la seguridad de que no se falsea nunca la experiencia por posibles filtraciones del líquido fermentescible que queda en A, decidimos sacar con una pipeta el sobrante, secar con papel de filtro y poner algo de mercurio en A, puesto que este metal no pasa a través de las llaves, según ya quedó indicado.

Durante todo el tiempo que dura la experiencia debe ser el nivel del mercurio en el tubo E algo inferior al que tiene en el tubo D. Para hacer la lectura, al terminar una prueba, se añade más mercurio, hasta que en D y E éste alcance igual nivel y simultáneamente se ve la presión atmosférica que

hay por medio de una lectura barométrica, y se toma la temperatura. Para más exactitud en ésta es conveniente tener sumergidos en agua los aparatos al hacer la lectura.

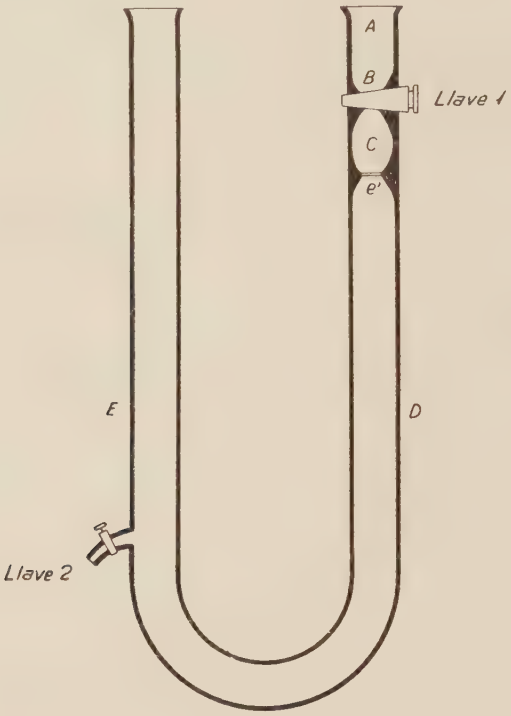


Fig. 1.

El tubo D va graduado en c.c. y décimas de c.c. El aparato se sujeta por un pie construído expresamente, y que sirve para dos fermentómetros.

El aparato debe ir estéril; lo más rápido es desinfectado un rato con la mezcla sulfocrómica, lavándolos luego con agua estéril y llenándolos a continuación con mercurio, que es estéril prácticamente por ser tóxico. En todas las manipulaciones se guardará la mayor asepsia posible, sin olvidar que como la experiencia ha de durar sólo pocas horas y la cantidad de levadura es enormemente mayor que la de cualquier otro microorganismo que pueda interferir, no es imprescindible una asepsia absoluta.

El líquido a fermentar ha sido preparado previamente y tiene, por tanto, además de una dosis igual en todos los casos del medio a fermentar, dosis variables de aneurina y agua destilada y ha sido sembrado con la levadura. La siembra se hace antes de empezar la experiencia con la levadura que se emplee en cada caso.

Los fermentómetros usados funcionan perfectamente, y la lectura volumétrica del gas desprendido puede hacerse con toda comodidad y rapidez.

La duración de la experiencia se ha procurado sea de tres horas o dos y media.

b) Medio de cultivo.

Fué sintético para asegurarse composición constante.

A tal fin se prepara previamente una solución de Cl y Fe al 1 por 100. Luego una solución que llamaremos A, cuya composición fué:

SO_4 Mg. 7 H_2O ... ... 0,7 gr. PO_4 KH_2 ... ... 1 gr.
Cl Na ... ... 0,5 gr. Cl_2 Ca ... ... 0,4 Cl_3 Fe ... ... 0,5 cc.

de la anterior solución. So_4 $(N\ H_4)_2$, 8 grs. Añadir H_2O destilada hasta 500 centímetros cúbicos. Solución B. glucosa, 200 grs., para igualar volumen. Ajustar el el pH a 4,8. La solución H resultó más básica, y se corrigió con Cl H normal.

Difiere este caldo de cultivo del de N. Nielsen en que tiene doble dosis de glucosa y 8 grs./l de SO_4 $(N\ H_4)_2$, en vez de 0,6 grs.

c) Precauciones adoptadas para evitar infecciones.

El agua usada en las diluiciones que más tarde indicamos para lograr que en todo caso la concentración del medio en fermentación sea igual, se esteriliza en autoclave a 120° C, durante veinte minutos.

Lo mismo se hace con la solución de Cl Na al 8 por 1.000, empleada para lavar las levaduras, y con el material empleado: matraces, etc.

Las pipetas se esterilizan a la llama de un mechero de gas.

Solución vitamínica.—Se pesa y hacen las diluiciones.

Como es suficientemente termoestable, siguiendo a Schultz, se esterilizan las diversas soluciones, puestas en frascos tapados con algodón, a 100° C, veinte minutos, dos días seguidos.

d) Dosificación de la aneurina.

Empleamos concentraciones de 1 a 4 γ en 25 c. c. y, teniendo en cuenta que preparamos cada vez 50 c. c., para tomar de allí el volumen que se introduce en el fermentómetro, bastará tener una solución que tenga 1 γ/c. c., pues con ello bastará tomar un número entero de centímetros cúbicos de esta solución para tener concentraciones mayores.

Por otra parte, como lo que se busca al establecer la curva-patrón es ver entre qué límites de concentración vitamínica es proporcional a ésta el incremento en la fermentación, interesa experimentar también con medios cuyo conte-

nido de aneurina sea mayor, para lo cual basta tener otra solución más concentrada.

Para ello, una cantidad de aneurina, clorhidrato cristalizado, la extendemos con una aguja de platino en una cápsula de porcelana, y llevamos a un desecador hasta obtener un peso constante. Logrado éste, pesamos en balanza de precisión 50 mg. = 50.000 γ, que cuidadosamente se llevan a un matraz aforado de 250 c. c., en el que hay un poco de agua destilada. Se agita bien un rato y luego se completan los 250 c. c.

2,5 c. c. de esta solución equivalen, por tanto, a 1.000 γ, y trasvasamos ese volumen a otro matraz aforado de 100 c. c. Con esto tenemos una solución que contiene 10 γ/c. c. Una nueva dilución 1/10 nos da una solución con 1 γ/c.-c. Para las experiencias tomamos la vitamina B_1 indistintamente de una u otra solución, según la cantidad de tiamina deseada.

e) Cultivo de las levaduras.

Las levaduras empleadas han sido las siguientes, que nos fueron entregadas en el Instituto de Microbiología, en cultivo puro: Levadura de panadería danesa, que entregó a dicho Centro el señor Fraile, y que se tomó como standard o tipo la producción de gases; la de Villafranca, de alto poder fermentativo, y levadura de panadería comercial prensada, de la Unión Alcoholera.

Las primeras se nos entregan en cultivo puro, y hay que hacer, por tanto, cultivo de enriquecimiento, llevándolas a matraces Erlenmeyer, primero de 200 centímetros cúbicos aproximadamente, y luego de litro, donde las multiplicamos a todas por igual en mosto preparado así:

El mosto concentrado se diluye próximamente siete veces, hasta que el mustímetro indica cinco grados probables (quiere decir que fermentando daría cinco grados de alcohol). Se añade peptona, dos gramos por litro, para enriquecerlo en nitrógeno asimilable por las levaduras, se filtra y esteriliza.

La levadura de panadería era mejor multiplicarla en malta, pero como tanto ésta como el mosto son preparados por el personal auxiliar del Instituto, y es más lenta la preparación de la primera, para uniformar y facilitar el trabajo de dicho personal, preferimos multiplicar todas las levaduras en el mismo medio de cultivo, por procedimiento usual, procurando máxima aerobiosis.

No ha sido posible disponer de levadura de igual antigüedad y, por ello, con unas veces las suspensiones preparadas serán más ricas que otras con gran diferencia; ésta influye en el volumen gaseoso desprendido. Sin embargo, como en cada caso interesan valores comparativos, y siempre va una pueba en blanco, no importa dicha variación. Tampoco influye ésta en la determinación de curvas-patrones, ya que en estos casos lo que interesa es hallar entre qué límites

de concentración hay un aumento en el desprendimiento de gases observado, proporcional a la riqueza vitamínica del medio.

Las levaduras se multiplican a 30°, temperatura a la que hemos tenido los fermentómetros durante las experiencias.

f) Marcha de las experiencias.

Con las precauciones indicadas, para evitar infecciones, se procede así:

Se contará con tantos matraces Erlenmeyer como fermentómetros, y en cada uno ponemos 10 c. c. del medio sintético; 10 c. c. de la suspensión de levadura usada en cada caso; de cero a cinco c. c. de una de las soluciones de tiamina preparadas, y completamos con agua estéril hasta 25 c. c. Luego se añaden otros 25 c. c., ya de agua estéril, ya de una suspensión muestra de la substancia cuya riqueza en aneurina investigamos.

II) OBTENCION DE LA CURVA-PATRON CON LEVADURA DE PANADERIA DANESA

No consignamos todas las experiencias realizadas, puesto que en la tabla I aparece el resumen de las mismas.

TABLA I

PROMEDIOS

De B_1 50 c. c.	En tres horas	Desviaciones máx. respecto a la media	Oscilación máxima en fermentación simultánea
0	1,5	+ 0,1	0,07
1	1,53	— 0,09	0,05
2	1,5	— 0,18	0,07
3	1,9	—	—
4	2,32	± 0,05	0,04
5	2,72	—	—
6	3,11	+ 0,04	0,06
7	3,38	± 0,01	0,02
8	3,65	+ 0,05	0,01
12	3,84	+ 0,06	—
25	4,2	+ 0,10	—
50	4,11	—	—
100	3,9	—	—

Como el tiempo de que se dispone diariamente es limitado, y en dos horas y media la fermentación es notablemente insuficiente, debido a que en las primeras horas, sobre todo si se siembra con levaduras que estaban en cultivo algo viejo, la fermentación arranca lentamente, se ha creído conveniente cada día preparar los Erlenmeyer en los que se disponen los caldos a fermentar, dejándolos incluso sembrados con la levadura y tapados con algodón asépticamente y a la temperatura de fermentación (30°): Al día siguiente, estando ya el líquido en plena fermentación, se lleva a los fermentómetros, y se consigue en pocas horas, dos y media o tres, una fermentación suficiente. Así se han conseguido las fermentaciones indicadas bajo el epígrafe «en tres horas» en las tablas.

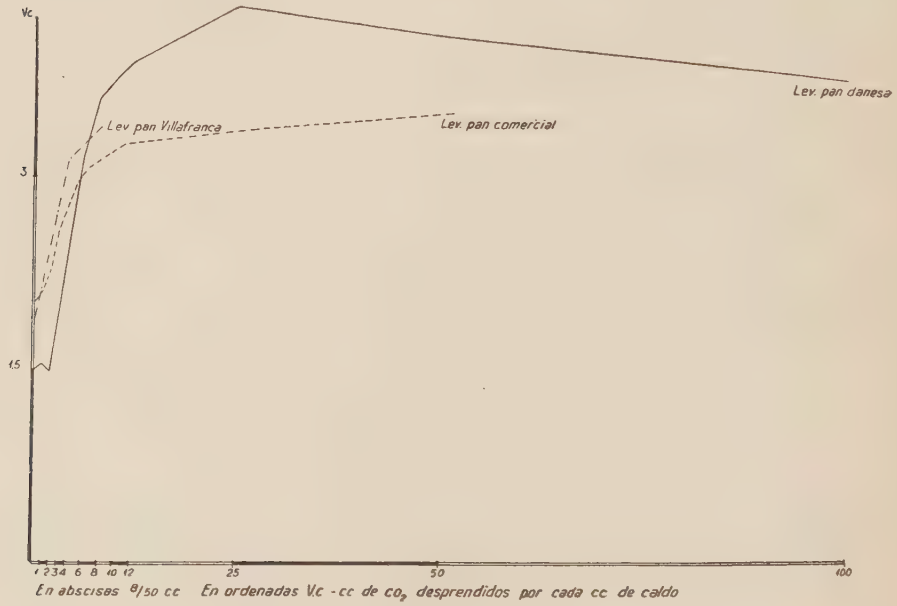


Fig. 2.

Presenta esta curva-patrón el inconveniente de que entre 0 y 2 γ de tiamina el incremento de la fermentación, dentro de los límites del error experimental, es prácticamente nulo. No parece probable se deba a anomalías de la solubilidad en el líquido en fermentación de una mezcla de aire, que saturará al empezar la fermentación el medio de cultivo, y CO_2 producido por la levadura, porque, observando la fermentación al día siguiente de obtenido el caldo como se indica más arriba, entonces ya está saturado dicho caldo de CO_2 cuando se le lleva al fermentómetro. Se trata, pues, de que dosis de aneurina comprendidas entre 0 y 2 γ el estímulo de la vitamina sobre la levadura empleada es demasiado pequeño, y cae en los límites del error experimental.

Por tanto, al hacer una determinación de la aneurina contenida en una muestra, en todos los fermentómetros con los que operamos, se tendrán dosis de vitamina comprendidas entre 2 y 6 γ, según puede verse más adelante (capítulo VII).

Obtenida la curva-patrón (figura 2) podemos comparar pendientes, no valores absolutos de ordenadas, y de este modo, viendo en qué zona el incremento en la fermentación es proporcional a la concentración en aneurina del medio, se puede hallar la riqueza vitamínica de una substancia cualquiera a ensayar. En este caso para 2 — 6 γ de aneurina/50 c. c. de medio de cultivo listo para fermentar sembrado de levadura, etc., según ya se ha explicado.

Para la validez del ensayo serán iguales a los empleados para trazar la curva la composición del medio fermentativo, incluída la raza de levadura y su antigüedad, y el tiempo que dura la fermentación.

Como más adelante se puede comprobar, en todo caso hemos tenido un fermentómetro sólo con levadura, medio sintético, agua y 2 γ de B_1, y otro en el que este mismo medio se ha enriquecido con dosis conocida de vitamina. Así el papel de la curva-patrón queda reducido a fijar la zona de incremento proporcional en la fermentación, como ya se ha dicho.

El ligero descenso en la fermentación para 100 γ no interesa por estar completamente fuera de las concentraciones de 2 — 6 γ ya indicadas, que son las únicas que interesan.

La oscilación máxima en fermentación simultánea es de 0,07 c. c. (referidos a un c. c. de caldo); como a 1 γ, corresponden para dosis entre 2 y 6 γ, a unos 0,40 c. c., los citados 0,07 c. c. equivalen a 0,175 γ, o sea, 1/5 de γ aproximadamente. De este orden es, pues, el error experimental al parecer.

III) ENSAYOS CON OTRAS LEVADURAS

En todos se ha operado como se indicó en el apartado I (marcha general) y en II (obtención de la curva-patrón con levadura de panadería).

a) Con levadura de panadería industrial.

En los trabajos de Schultz y sus colaboradores hemos leído reiteradamente que emplean levadura comercial prensada. Es indiscutible que desde un punto de vista práctico resulta mucho más cómodo y fácil para el investigador el uso de esta levadura, pues así puede emplear una cantidad fija en peso y tener una suspensión de riqueza muy constante, sin perder tiempo ni trabajo ninguno en preparar los cultivos de levadura. Tiene, sin embargo, como inconvenientes el que no conocemos la antigüedad de la misma y que tales levaduras industriales, aunque en teoría deban ser puras, en la práctica no lo suelen ser, y si

hay, por ejemplo, dos razas distintas, ello parece interferir, ya que una vez una puede predominar más y otra vez la otra, y puede ser más apta que la otra para estas determinaciones. Sin embargo, como cada vez se tiene un fermentómetro sólo con el medio sintético, prueba en blanco, y otro, al que sólo se añade una dosis de vitamina, es evidente que la levadura de panadería comercial puede ser suficiente para estos ensayos aunque no se trate de cultivo puro.

Los ensayos que hemos hecho tienen por objeto ver si es posible usar, con garantía de éxito en estas determinaciones, levadura comercial. La que hemos empleado es la que produce la Unión Alcoholera, S. A. Otras Sociedades pueden producir otras razas de levaduras distintas que en el asunto que nos ocupa den diferente resultado.

Análogamente, los buenos resultados obtenidos por Atkin y sus colaboradores con levaduras comerciales de determinada casa norteamericana, Fleishman, evidentemente no serán iguales con otras levaduras.

El resultado de las experiencias, resumido en la tabla II:

TABLA II

PROMEDIOS

γ de B_1 50 c. c.	V. C.	Desviaciones máx. respecto a la media	A. (*)
0	2,01	— 0,19	0,06
1	2,10	— 0,20	0,05
2	2,26	± 0,15	0,05
3	2,23	—	—
4	2,57	— 0,16	0,04
6	2,90	— 0,14	0,06
7	3,01	— 0,14	—
8	3,06	± 0,12	—
12	3,22	± 0,10	—
25	3,34	—	—
50	3,48	—	—

(*) A.—Oscilación máxima en fermentación simultánea.

Comparando las levaduras danesas y española encontramos en esta zona de incremento proporcional de la fermentación a dosis crecientes de aneurina 2 — 6 γ, igual que en la danesa. Entre 0 y 2 γ el estímulo de la tiamina es menor que luego; no se presenta, sin embargo, una zona para esas concentracio-

nes, en la que no hay estímulo apreciable en la fermentación, como en el caso de la levadura danesa.

Con ésta las desviaciones respecto a la media son algo menores que en el caso de la levadura comercial, pero esto es de interés relativo, ya que no interesa comparar valores absolutos de fermentaciones, sino sólo encontrar la rama rectilínea de la curva-patrón.

La columna A de la tabla II da un error operatorio que oscila entre 0,04 y 0,06 V. C. Este último error es bastante grande, ya que representa 1/3 γ en una determinación. Como la curva-patrón con levadura danesa es mucho más pendiente resulta, para igual error operatorio, más exacta ésta que la comercial.

b) **Levadura de Villafranca.**

Los resultados de las experiencias, en la tabla III:

TABLA III

PROMEDIOS

γ de B_1 50 c. c.	V. C.	Desviaciones máx. respecto a la media	Oscilación máxima en fermentación simultánea
0	1,89	— 0,09	0,04
1	2,10	+ 0,01	0,02
2	2,43	— 0,09	0,05
3	2,64	+ 0,02	0,04
4	3,01	0,10	0,05
5	3,32	0,015	0,03
6	3,53	0,03	0,06
8	3,75	0,035	0,07

Como se ve, la levadura de Villafranca tiene la ventaja de que la rama rectilínea de la curva patrón se inicia prácticamente para 0 γ de tiamina, no habiendo, por tanto, una zona, como en el caso de la levadura danesa, en la que el estímulo en la fermentación es prácticamente inapreciable. También por ser más fuertes que en el caso de la levadura comercial los incrementos para dosis iguales de aneurina, compáranse en el gráfico 2 las curvas (l. comercial) y (l. Villafranca), y dado que los errores experimentales son de igual orden. Es preferible la levadura de Villafranca a la comercial. En este caso la mayor oscilación en fermentación simultánea ha sido 0,07 c. c. (tabla III, que corresponde a 1/4 de γ de aneurina, ya que 0,28 c. c. equivalen en volumen V. C. (referido a 1 c. c. de caldo, como sabemos) a 1 γ de tiamina.

IV) DETERMINACION DE LA TIAMINA EN LAS LEVADURAS DE PANADERIA

a) Preparación de la levadura.

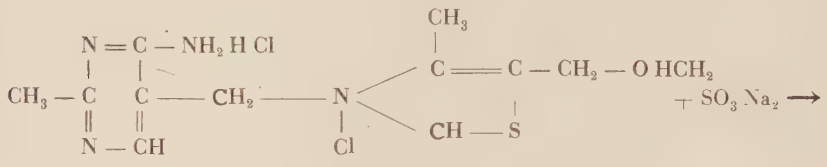
Para comparar con los test realizados en la Escuela de Agrónomos (1 y 8) como en ambos, se determinó la aneurina en las levaduras de panadería y cerveza, decidimos hacer lo propio ahora para poder comparar los resultados.

Lo primero que hay que hacer es la autolisis de la levadura.

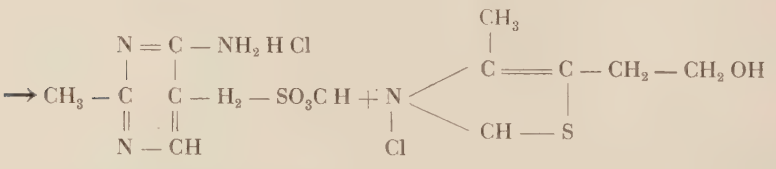
La suspensión de esta última se hace en agua destilada, y de ella se añaden al medio 25 c. c., que se agregan al caldo en vez de los 25 c. c. de agua que se indican en el apartado F de la parte I.

Se hacen dos pruebas con levaduras danesa (cultivo puro) e industrial. En ambos se ha tratado de evitar el error que pueden producir las substancias que interfieren, entre ellas 2 — metil — 5 — etoximetil — 6 aminopirimidina (12) y el ácido nicotínico (13). Con este objeto se ha propuesto el empleo de substancias como los ferrocianuros alcalinos que oxidan la aneurina, pasándola a tiocromo, cuerpo éste que es inactivo en la fermentación o bien la «escisión» por el sulfito sódico.

El segundo método parece el preferible. Se funda en la reacción siguiente:



Clorhidrato de tiamina



I.—2 metil — 6 aminopirimidina — 5 metil ácido sulfónico

II. 4 metil — 5 (β-hidroxi)-etil-tiazol

La cocarboxilasa (difosfato de tiamina) es inactivada análogamente. La aminopirimidina no es afectada. Así, pues, determinamos por este método la cocarboxilasa y la aneurina conjuntamente.

La suspensión ha de ser homogénea, y la preparamos con un cg. de levadura autolisada por c. c.

He aquí los resultados obtenidos siguiendo la técnica de Schultz:

TABLA IV

(LEV. PAN. DANESA)

Ferm.	Se añade al medio	En tres horas				N.º de orden
		c. c.	T.	Pre.	V. C.	
1,066	Nada	2,95	17	712	1,53	1
1,048	2 γ de B_1	2,70	"	"	56	2
1,087	4 γ de B_1	5,3	"	"	2,42	3
1,057	(a)	4,3	"	"	2,37	4
1,062	(a)	4,45	"	"	2,38	5
1,074	(a)	4,95	17,5	"	2,51	6
1,075	(b)	3,4	"	"	1,66	7
1,073	(b)	3,3	"	"	1,61	8
1,088	(b)	3,7	"	"	1,63	9
1,081	(c)	5,35	"	"	2,51	10
1,085	(c)	5,55	"	"	2,54	11
1,085 B	(c)	5,55	"	"	2,54	

(a) significa 2 cg. de Lev. auto. y 2 γ de aneurina
(b) significa 2 cg. de Lev. auto. trat. con $SO_3 Na_2$ más 2 γ de tiamina.
(c) significa 2 cg. de Lev. auto. trat. con $SO_3 Na_2$ más 4 γ de B_1.

Naturalmente, en estos experimentos y en todos los que se exponen de aquí en adelante se siguió lo dicho al tratar de cada levadura, al ocuparnos de las correspondientes curvas-patrones.

TABLA V

LEV. PAN. COMERCIAL

Ferm.	Se añade al medio	En tres horas				N.º de orden
		c. c.	T.	Pre.	V. C.	
1,048	Nada	2,55	15	710	1,94	1
1,066	2 γ de B_1	4,15	"	"	2,14	2
1,062	4 γ de B_1	4,9	"	"	2,56	3
1,074	(a)	5,6	"	"	2,64	4
1,087	(a)	6,0	"	"	2,81	5
1,057	(a)	5,1	16	"	2,67	6
1,088	(b)	5,1	"	"	2,31	7
1,085	(b)	5,1	"	"	2,34	8
1,081	(b)	4,95	"	"	2,33	9
1,085 B	(c)	6,15	15,5	"	2,81	10
1,073	(c)	5,9	"	"	2,89	11
1,075	(c)	5,55	"	"	2,68	12

(a), (b), (c) igual significado que en la tabla anterior.

c) **Discusión de los resultados.**

Los tres primeros fermentómetros muestran que la fermentación ha sido del mismo orden que cuando se construyeron las respectivas curvas-patrones, por lo que se han tenido condiciones análogas a las de entonces.

De 3 y 2 deducimos que a 2 γ de aneurina corresponde un incremento en la fermentación de 0,86 c. c. y 0,32 c. c., respectivamente, según clase de levadura.

Por otra parte, hallando las medias aritméticas de los tres valores (a), (b) y (c), se tiene, respectivamente, según levadura, 2,39 c. c., 1,64 c. c. y 2,53 c. c.; 2,64 c. c., 2,33 c. c. y 2,79 c. c. La diferencia entre los dos últimos pares de valores muestra un incremento en la fermentación, que es sensiblemente el correspondiente a 2 γ de tiamina, como debía ser. Por otra parte, la diferencia entre los dos primeros es, respectivamente, 0,75 y 0,41 c. c.

Una proporción nos da la cantidad de tiamina, teniendo en cuenta la diferencia entre 3 y 2. En efecto:

$$\frac{2\,(a-b)}{(3)-(2)} = \frac{2\,(2{,}39-1{,}64)}{2{,}42-1{,}56} = \frac{2\,.\,0{,}75}{0{,}86} = 1{,}62\,\gamma/2\ \text{cg.},$$ en el primer caso,

$$\frac{2\,(a-b)}{(3)-(2)} = \frac{2\,.\,0{,}32}{0{,}41} = 1{,}56\,\gamma\,2\ \text{cg.},$$ en el segundo caso.

Por tanto, en un gramo hay:

$$50 \times 1{,}62 = 81{,}00\ \gamma/\text{gr.} \qquad 50 \times 1{,}56 = 78{,}00\ \gamma/\text{gr.}$$

Y como 3 γ = 1 U. I.

$$\frac{81}{3} = 27\ \text{U. I./gr.} \qquad \frac{78}{3} = 26\ \text{U. I./gr.}$$

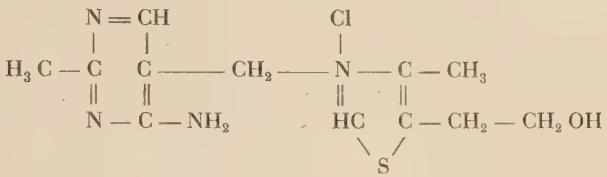
Como puede verse, las tres determinaciones (c) no han sido en realidad necesarias. Se hicieron porque en el trabajo (1) se llegó a la conclusión de que «la levadura autolisada contiene una substancia que determina un mejor aprovechamiento de la aneurina por Saccharomyces Carlsbergensis», que fué la levadura entonces empleada. A esta conclusión se llegó porque la levadura autolisada tratada por el sulfito y añadida de una dosis conocida de tiamina daba un incremento en la fermentación que no era el que correspondía a la dosis adicionada de aneurina, sino que estaba con ella en la relación 4 : 3 próximamente, y se desechaba la hipótesis de que el tratamiento por el sulfito hubiera sido insuficiente, porque habiendo tratado de igual manera una solución de aneurina mostró, que sin ser total la inactivación de la vitamina, era suficiente y, desde luego, no parecía por ello vero-

símil se debiera a la vitamina residual en la levadura autolizada la anomalía observada.

En las experiencias actuales: 1.º Sembrando con levadura que ha sido centrífuga y lavada. 2.º Los fermentómetros (C) nos dan un incremento de la fermentación respecto a las (b), que es el que corresponde a las 2 γ de aneurina añadida, y no puede, por tanto, decirse que exista en presencia de levadura de panadería autolizada «una menor utilización de la aneurina disponible». Sin embargo, comparando las (c) de las tablas XXIV con los 1 y 2, se ve un ligero incremento en la fermentación real sobre la teoría 0,89 y 0,46 frente a 0,86 y 0,41, que por ser tan pequeño no puede servir de base para ninguna hipótesis.

V) DETERMINACION DE LA VITAMINA B_1 Y DE LA COCARBOXILASA SEPARADAMENTE

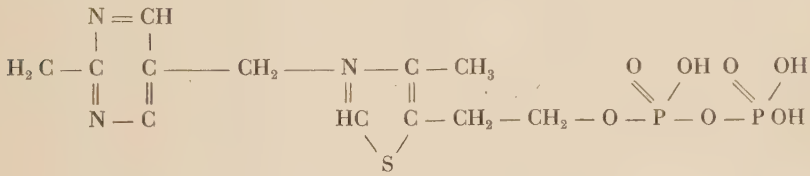
La fórmula de la vitamina B_1:



y se ha logrado la síntesis por la obtención de una solución de tiazol y por el derivado pirimídico de la tioformamida.

Por otra parte, Lohman y Schuster, a partir de la levadura de cerveza, lograron obtener la cocarboxilasa, en forma de clorhidrato, cristalina.

En la actualidad se admite la identidad de la aneurina fosforilada sobre el radical oxietilo en C_5 y la carboxilasa de los autores citados, y cuya fórmula es:



Este fermento desempeña papel principal en la degradación de los glúcidos, asegurando la descomposición del ácido pirúvico según la reacción:

$$CH_3 - CO - COO\ H \longrightarrow CO_2 + CH_3 - CHO$$

Y precisamente este CO_2 es el medido en nuestras experiencias volumétricamente.

Sucede, pues, que la levadura transforma a la tiamina en su ester pirofosfórico la cocarboxilasa, enzima que, como hemos dicho, interviene en la fermentación alcohólica.

No hemos encontrado técnicas para separar la cocarboxilasa de la tiamina aplicable al método fermentativo.

Este no es un inconveniente demasiado grave, puesto que en los animales superiores la cocarboxilasa muestra también acción vitamínica. Así se ha comprobado en el test curativo de la rata, donde se encontró menos activa, sin embargo, a la citada enzima de la fermentación alcohólica.

Por tanto, no hemos determinado nunca la aneurina y la cocarboxilasa por separado.

VI) ACCION DE ALGUNAS SUBSTANCIAS QUE LO PUEDEN INTERFERIR

La biotina, o factor bios 2, se extrae del huevo de gallina.

Dado, pues, que es un factor de crecimiento de la levadura y puesto que en algunos casos hemos creído que factores de crecimiento pueden determinar anomalías en la utilización de la tiamina por la levadura, se hizo esta prueba.

Fué precisamente por la anomalía encontrada en el caso de los huevos por lo que se hizo este ensayo, que en un principio pensamos dejar de lado.

La experiencia se dispone como indica la tabla VI:

TABLA VI

LEV. DANESA

Ferm.	Se añade al medio	c. c.	t.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B_1	3,1	15	709	1,59
1,062	2 γ de B_1	1,8	"	"	0,96
1,087	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	4,2	"	"	1,91
1,057	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	3,8	"	"	2,05
1,088	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	4,1	"	"	1,93
1,081	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	4,1	"	"	1,93
1,085	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,4	"	"	1,10
1,073	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,3	"	"	1,12
1,075	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,35	"	"	1,13
1,085	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,4	"	"	1,10

En vista del resultado obtenido se repite la experiencia. Ver tabla VII.

TABLA VII

LEV. DANESA

Ferm.	Se añade al medio	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	3,2	16	709	1,64
1,062	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	1,9	"	"	1,00
1,074	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	3,9	"	"	1,80
1,087	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	4,0	"	"	1,83
1,085	4 γ de B_1 y 10 cc. biotina	3,9	"	"	1,75
1,085 B	2 γ de B y 10 cc. biotina	2,4	"	"	1,10
1,088	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,45	"	"	1,11
1,075	2 γ de B_1 y 10 cc. biotina	2,1	"	"	1,02

De las tablas VI y VII se deduce:

Para 4 γ de tiamina V. C. medio de 1,64 c. c.
Para 2 γ de tiamina V. C. medio de 0,96 c. c.

Diferencia ... ... 0,68 c. c.

Para 4 γ vit. y 10 c. c. sol. biotina V. C. medio de 1,89 c. c.
Para 2 γ vit. y 10 c. c. sol. biotina V. C. medio de 1,10 c. c.

Diferencia ... ... 0,79 c. c.

Parece deducirse que la biotina, que sabemos es un factor de crecimiento de la levadura, acelera la fermentación, pues en su presencia ésta es algo más activa. Además, las diferencias que figuran más arriba podrían indicar que, como consecuencia de esa activación en la fermentación hay una causa de error en el método seguido. En efecto: si tratamos de hacer una determinación de la cantidad de vitamina B_1 que hay en una muestra que contiene además biotina, y para ello tratamos unas muestras por el $SO_3\ Na_2$ y otras no, como queda dicho, obteniendo por diferencia un número **n** y luego dividimos n por n' (n' se ha obtenido como incremento en el desprendimiento de gas correspondiente a 1 γ de aneurina añadida al medio sintético) hay un error por exceso que, según las cifras halladas, es de $\frac{7}{6}$, o sea, aproximadamente 1/7.

Es evidente que este error se evita si el incremento en la fermentación correspondiente a 1 γ de tiamina lo hallamos no operando sobre el medio sintético solo, sino procediendo así:

Se toman cuatro muestras iguales, que numeraremos 1, 2, 3 y 4. 1 la llevamos sin más en unión de la suspensión de levadura y el medio sintético a

un fermentómetro; 2, 3 y 4 son tratadas por el SO_3Na_2 y después 2 sin más se lleva, como 1, a un fermentómetro. Con la 3 añadimos 4 γ de tiamina y con la 4, 2 γ de la misma, llevando a fermentar como las anteriores. Corregidos los volúmenes, leídos como siempre, se obtienen los números (1), (2), (3) y (4).

Como (1) — (2) corresponde a la vitamina B_1 contenida en la muestra y (3) — (4) a 2 γ de ésta, la cantidad de la misma contenida en una muestra será:

$$2\,\frac{(1)-(2)}{(3)-(4)}$$

En caso de usar levadura danesa o análoga, por lo dicho al tratar de la curva-patrón en (6 y 9), pondremos, además, 2 γ de aneurina.

Observando las tablas anteriores se ve que el error experimental da una desviación máxima para valores corregidos referidos a 1 c. c. de 0,14. Por tanto, está dentro del error experimental el hallado.

No obstante, es sospechoso el hecho de que se produzcan en igual sentido las discrepancias, las cuales son siempre por exceso. Evidentemente, siete muestras son pocas para llegar a conclusiones definitivas, y por ello, sin olvidar que puede deberse al azar, se ha hecho aplicación de la prueba t de Student para muestras pequeñas, para que esta prueba de significación, a la que no damos más valor que el que le concede la Estadística, nos oriente sobre este punto.

Los datos con que contamos están tomados de las tablas VI y VII. Suponemos que el valor de la diferencia de gas desprendido cuando al medio sintético se añade 4 ó 2 γ de aneurina es 0,68 c. c. y para 2 γ de aneurina, que el estudio de la curva-patrón muestra, corresponde al comienzo de la parte rectilínea de la misma, en presencia de biotina, el V. C. es de 1,1 c. c., obteniéndose para 4 más biotina los valores que figuran en el cuadro siguiente:

V. C.	V. C. — 1,1 = x	$x - X$	$(x - X)$
1,91	0,81	0,02	0.0004
2,05	0,95	0,16	0,0256
1,93	0,83	0,04	0,0016
1,93	0,83	0,04	0,0016
1,80	0,70	0,09	0,0081
1,83	0,73	0,06	0,0036
1,73	0,65	0,14	0,0196
	5,50		0,0605

$$X = \frac{5,5}{7} = 0.79$$

$$\frac{S}{n} = \frac{0,0605}{7\ \ 6} = 0,00144 \qquad t = \frac{X - a}{Sx} = \frac{0,79 - 0,68}{\sqrt{0,00144}} = 2,9.$$

Como V = grados de libertad = 6, la tabla calculada por Fisher da que existe una probabilidad entre el 2 y el 5 por 100. Los niveles de significación que adoptan las estadísticas son 5 por 100 y 1 por 100, siendo muy sospechosa una prueba de significación que da una probabilidad de deberse sólo al azar las discrepancias halladas comprendidas entre 5 y 1 por 100 y totalmente rechazable si da menor que 1 por 100. Con todas las reservas atribuíbles a una probabilidad, no excluyendo la posibilidad de ser un caso desfavorable, se deduce que la discrepancia hallada no es probable sea atribuíble al azor solo, y, por tanto, es probable exista el error señalado, que se corrige como queda dicho.

VII) DETERMINACION DE LA ANEURINA EN SUBSTANCIAS ALIMENTICIAS Y COMENTARIO DE LOS RESULTADOS HALLADOS

a) Técnicas seguidas.

Para preparar las distintas muestras se siguieron las técnicas que recomienda (15).

b) Cebada.

Molida hasta homogeneidad, se separan tantas muestras de 1/2 gr. como fermentaciones se van a observar, haciendo suspensión en agua hasta 25 c. c. y añadiendo dicha suspensión, en lugar de agua destilada sola, al medio preparado como siempre.

La experiencia se dispone según la tabla VIII.

TABLA VIII

LEV. PAN. DANESA

Ferm.	Se añade al medio	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B_1	1	4,2	15	714	2,15
1,081	2 γ de B_1	2	3,85	"	"	1,47
1,085	4 γ de B_1 1/2 gr. cebada tratada por SO_2Na_2	3	4,65	"	"	2,20
1,074	2 γ de B_1 1/2 gr. cebada por SO_3Na_2	4	3.1	"	"	1,50
1,075	1/2 gr. de cebada tratada por SO_3Na_2	5	3,0	"	"	1,45
1,062	1/2 gr. cebada y 2 γ B_1	6	4,2	"	"	2,20

En esquema, igual disposición se siguió en todos los casos. Así podemos hallar: 1.º 2—1 = incremento en la fermentación correspondiente a 2 γ de tiamina en la zona de crecimiento proporcional que empieza precisamente para 2 γ.

3—4 = incremento en la fermentación correspondiente a 2 γ en la zona de crecimiento proporcional, en presencia de la substancia cuya riqueza vitamínica se investiga tratada por el sulfito.

Comparando las diferencias 1—2 y 3—4, si ambas son iguales, salvo el error experimental, no hay ninguna anomalía. Si, por el contrario, 3—4 es mayor que 1—2 en varias pruebas, se presenta lo que llamamos «una mejor utilización de la tiamina» en presencia de la materia cuya riqueza en aneurina se investiga.

Por último, 6—4 da, mediante una proporción comparándola con 1—2, o con 3—4, si esta diferencia difiere sensiblemente de 1—2, la cantidad de aneurina que hay en la parte alícuota de la muestra tomada; 1—2 y 3—4 son en este caso sensiblemente iguales, lo que prueba que el método es bueno para la cebada.

Se hacen, además de las indicadas en la tabla anterior, las cinco determinaciones siguientes (tabla IX). Estas se realizaron simultáneamente a las consignadas en la tabla X.

TABLA IX

LEV. PAN. DANESA

Ferm.	Se añade al medio	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,048	1/2 gr. de cebada y 2 γ		3,75	15	713	2,15
1,073	1/2 gr. de cebada y 2 γ		4,70	"	"	2,3
1,087	1/2 gr. de cebada y 2 γ		5,15	"	"	2,34
1,088	1/2 gr. de cebada y 2 γ		5,4	"	"	2,45
1,057	1/2 gr. de cebada y 2 γ					
	Trat. por SO_3 y Na_2		2,7	"	"	1,45

Para el cálculo de la cantidad de aneurina contenida en la cebada sólo la media de las determinaciones da una impresión falsa de la realidad, pues sería demasiado ingenuo quien crea que tomando al azar un gramo de cebada va a hallar una cantidad de tiamina igual a la media. Por ello, calculamos el coeficiente de variación en tanto por ciento de la media. Veamos la tabla X.

TABLA X

V. C.	V. C.	Aneurina γ gr.	Desviaciones	Id. al cuadrado
2,2	2,2	4,21	— 0,26	0,0676
2,15	2,15	4,06	— 0,41	0,1681
2,3	2,3	4,5	0,03	0,0009
2,34	2,34	4,62	0,15	0,0225
2,45	2,45	4,94	0,47	0,2209
		22,33		0,4800

$$X = 4{,}47 \qquad \sigma = \sqrt{\frac{0{,}4800}{5}} = 0{,}31,$$

$$C = 100\,\frac{0{,}31}{4{,}47} = 7{,}62\ \%.$$

Se puede, pues, dar como riqueza de la cebada ensayada 4,47 γ/gr., con un 7,62 por 100 de error, o bien 4,47 ± 0,93, puesto que en un pequeño nú-

mero de muestras la variabilidad usualmente es $\pm \sigma$ 30, habiendo 2/3 de probabilidad de que el verdadero valor es el dado por la expresión

$$4{,}47 \pm 0{,}31\ \gamma/\text{gr.}$$

c) Coles.

Picadas finamente, empleando dos gramos cada vez, disponiéndose el ensayo según la tabla XI.

En dos horas:

TABLA XI

LEV. PANADERÍA COM.

Ferm.	Se añade al medio	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B.	1	4,75	17	713	2,44
1,048	2 γ de B.	2	3,75	"	"	2,12
1,074	4 γ de B_1 2 gr. col. tratada por $SO_3 Na_2$ ...	3	5,5	"	"	2,68
1,073	2 γ de B 2 gr. col. tratada por $SO_3 Na_2$ ...	4	4,8	"	"	2,34
1,075	2 gr. col. tratada por $SO_3 Na_2$	5	4,25	"	"	2,07
1,081	2 gr. col. tratada por $SO_3 Na_2$	6	4,35	"	"	2,03
1,087	2 gr. col. y 2 γ de B_1	7	5,8	"	"	2,65
1,088	2 gr. col. y 2 γ de B_1	8	6,05	"	"	2,71
1,085	2 gr. col. y 2 γ de B_1	9	6,0	"	"	2,74
1,062	2 gr. col. y 2 γ de B	10	5,0	"	"	2,63
1,057	2 gr. col. y 2 γ de B_1	11	5,05	"	"	2,64

Las diferencias 1—2 y 3—4 son completamente análogas; no se observa, pues, ninguna anomalía; 3 y 4 son en valor absoluto mayores que 1 y 2, pero ello, sin duda, se debe a los factores de crecimiento aportados por la verdura (coles). Lo mismo se confirma observando 5 y 6.

Podemos, pues, proceder al cálculo de la vitamina contenida en un gramo de muestra.

TABLA XII

V. C. — 2 gr.	V. C. — 2 gr.	Aneurina γ/gr.	Desviaciones	Id. al cuadrado
2,65	2,65	0,97	— 0,04	0,0016
2,71	2,71	0,85	— 0,16	0,0216
2,74	2,74	1,25	0,24	0,0576
2,63	2,63	0,90	— 0,11	0,0121
2,69	2,69	1,09	0,08	0,0064
		5,06		0,0993

$$X = 1{,}01 \qquad \sigma = \sqrt{\frac{0{,}0993}{5}} = \sqrt{0{,}01986} \backsimeq 0{,}141.$$

$$C = 100 \times \frac{0{,}141}{1{,}01} \backsimeq 14\ \% \qquad C = 10\ X \frac{0{,}179}{1{,}01} = 11{,}8\ \%.$$

Tenemos, pues, como media 1' γ/gr. de vitamina B_1, con un error expresado en tanto por ciento de la media del 14 por 100.

Se puede también admitir que tomando más muestras de la col ensayada se tendrían valores comprendidos en los límites de

$$1 \pm 0{,}423 = X + 3\sigma.$$

d) **Huevo (yema).**

Se procede en forma análoga a la de antes, y siguiendo técnica análoga. Los resultados en la tabla XIII.

Se toma cada vez 0,5 gr. de muestra (yema de huevo).

TABLA XIII

LEV. PAN. DANESA

Ferm.	Se añade al caldo	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B_1	1	4,3	16	70	2,2
1,048	2 γ de B_1	2	3,0	"	"	1.55
1,074	4 γ de B_1 1/2 gr. yema trat. por SO_3 Na_2	3	5,1	"	"	2,73
1,073	2 γ de B_1 1/2 gr. yema trat. por SO_3 Na_2	4	3,6	"	"	1,75
1,075	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2	5	3,3	"	"	1,60
1,081	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	6	6,1	"	"	2,85
1,087	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	7	6,0	"	"	2.71
1,088	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	8	6,55	"	"	2,96
1,085	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	9	6,7	"	"	3.21
1,062	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	10	5,4	"	"	2.85
1,057	1/2 gr. yema tratada por SO_3 Na_2 y 2 γ de B_1	11	5,6	"	"	3,05

Observando la tabla se observan las siguientes diferencias: 1—2 = 0,65; 3—4 = 0,98. Por otra parte, la diferencia 1—2 es del orden de las observadas en anteriores experiencias, pero 3—4 es mayor. Para confirmar la anomalía se repitió la experiencia.

TABLA XIV

LEV. PAN. DANESA

Ferm.	Se añade al medio	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C
1,066	4 γ de B_1	1	3,6	15	700	1,85
1,048	2 γ de B_1 yema	2	2,1	"	"	1,20
1,073	4 γ de B_1, 1/2 gr. trat. por SO_3 y Na_2.	3	4,8	"	"	2,35
1,074	2 γ de B_1 1/2 gr. trat. por SO_3 Na_2	4	2,75	"	"	1,35
1,062	4 γ de B_1, 1/2 gr. trat. por SO_3 Na_2	5	4,6	"	"	2,42
1,057	2 γ de B_1 1/2 gr. trat. por SO_3 Na_2	6	2,55	"	"	1,38

La fermentación fué menos activa en este segundo caso, no obstante las diferencias 1—2 = 0,65, 3—4 = 1,00 y 5—6 = 1,04 son del mismo orden que las anteriores. Este resultado todavía debía ser obtenido mucho mayor número de veces para él, por sí mismo, ser considerado definitivo, pero unido a lo antes indicado en el caso de la biotina y lo que más adelante se dirá para la carne, parece confirmar que, efectivamente, seguramente hay factores de crecimiento de la levadura, entre los que debe encontrarse la biotina, que determinan una mayor activación de la fermentación por la aneurina en su presencia, que la determinaría igual dosis vitamínica en ausencia de dichos factores de crecimiento (biotina, etc.) aportados por las substancias cuya riqueza vitamínica investigamos.

Por tanto, para averiguar en el caso de la yema de huevo su riqueza en tiamina no podemos tomar como base la diferencia 1—2 entre las fermentaciones correspondientes a 4 y 2 γ añadidas al medio sintético, sino la diferencia entre dichas dosis añadidas al medio en presencia de yema de huevo tratada por sulfito.

TABLA XV

V. C.	V. C. — 0,5 gr.	Aneurina γ/gr.	Desviaciones	Id. al cuadrado
2,85	2,85	8,4	— 0,35	0,1225
2,71	2,71	7,84	+ 0,91	0,8120
2,96	2,96	8,84	— 0,09	0,0081
3,21	3,21	9,84	— 1,09	1,1900
2,85	2,85	8,4	— 0,35	0,1225
2,05	2,05	9,2	0,45	0,2030
		52,52		2,4581

$$X = 8{,}75 \qquad \sigma = \sqrt{\frac{2{,}4581}{6}} = \sqrt{0{,}41} = 0{,}642.$$

$$= 100 \cdot \frac{0{,}642}{8.75} = 7{,}3\ \%.$$

Tenemos, pues, una media de 8,75 γ/gr., con un error probable de 7,3 por 100.

Análogamente, o como en casos anteriores, damos las dos cotas de error de

$$X \pm 3\sigma = 8{,}75 \pm 1{,}926, \quad \text{y} \quad X \pm \sigma = 875 \pm 0{,}642\ \gamma/\text{gr}.$$

Se empleó yema de huevo cocido, separada de la clara y desecada a menos de 100° (80-90° C).

e) Carne.

Se procede de forma análoga, o como en casos anteriores. Se dispone la experiencia según indica la tabla XVI. Observando la misma se encuentra: 1—2 = 0,40, 3—4 = 0,52. Por tanto, aunque de modo menos acusado, o como en el caso de la yema de huevo, hay también factores de crecimiento que interfieren.

TABLA XVI

LEV. PAN. COMERCIAL

Ferm.	Se añade al medio	Núm.	c. c.	T.	Pre.	V. C.
1,066	4 γ de B_1	1	5,1	15	701	2,6
1,048	2 γ de B_1	2	3,8	"	"	2,2
1,073	4 γ B_1 1/2 carne trat. por SO_3 Na_2	3	6,1	"	"	2,98
1,074	2 γ B_1 1/2 carne trat. por SO_3 Na_2.	4	5,05	"	"	2,46
1,081	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	5	6,55	"	"	3,08
1,087	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	6	6,65	"	"	3,02
1,088	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	7	6,55	"	"	3,21
1,085	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	8	6,4	"	"	2,96
1,062	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	9	6,0	"	"	3,15
1,057	1/2 gr. carne y 2 γ B_1	10	5,75	"	"	3,11

Por tanto, para los cálculos tomamos como base la diferencia 3—4 = 0,52, que corresponde a 4—2 = 2. Así se ha construído la tabla XVII.

TABLA XVII

V. C./0,50 gr.	Aneurina γ/gr.	Desviaciones	Id. al cuadrado
3,08	4,78	— 0,05	0,0025
3,02	4,3	— 0,53	0,2800
3,21	5,0	0,17	0,0289
2,96	4,6	— 0,23	0,0529
3,15	5,3	0,47	0,2019
3,11	5,0	0,17	0,0289
	28,98		0,5951

$$X = 4{,}83 \qquad \sigma = \sqrt{\frac{0{,}5951}{6}} = \sqrt{0{,}0992} = 0{,}313$$

$$C = 100\ \frac{3{,}13}{4{,}83} = 6{,}5\ \%.$$

Tenemos, pues, una media de 4,83 γ/gr., con un error probable de 6,5 por 100.

Análogamente, o como en casos anteriores, damos las dos cotas de error, cuyo significado ya indicamos, de

$$X \pm 3\sigma = 4{,}83 \pm 0{,}939\ \gamma/\text{gr.} \quad \text{y} \quad \text{de } X \pm \sigma = 4{,}83 \pm 0{,}313\ \gamma/\text{gr.}$$

La carne, muslo de cordero, se picó tres veces en maquinilla ordinaria de cocina, y el producto obtenido se lleva a matraz aforado y tarado, lográndose así la suspensión.

VIII) COMPARACION CON EL TEST FERMENTATIVO ANTERIOR Y CON EL TEST PHYCOMYCES

Para esta comparación nos fijamos especialmente en la parte IV de este trabajo: determinación de la vitamina B_1 en la levadura de panadería industrial autolisada. Se experimentó empleando para fermentar la levadura danesa y la comercial.

No se hizo ningún ensayo con levadura de cerveza autolisada.

Para la levadura de panadería se obtuvo en el test con el Phycomyces 4,9 mg./100 gr., y ahora se halló 81 γ/gr. y 78 γ/gr., empleando para fermentar las dos levaduras citadas. Estas cantidades de aneurina equivalen a 8,1 y 7,8 mg./100 gr.

Estas diferencias no son extrañas porque la edad, etc., de la levadura autolisada pueden variar ampliamente su riqueza vitamínica.

En cuanto a desviaciones máximas en las repeticiones hechas, para más seguridad hemos tenido para V. C.:

	Lev. p. danesa			Lev. pan comercial		
Vol. V. C. encontrado	2,37	2,38	2,51	2,64	2,71	2,67

	Lev. p. danesa			Lev. pan comercial		
Incremento V. C. encontrado	2,72	0,73	0,86	0,29	0,36	0,32
Desviación máxima, D = ...		0,14		0,08		
% que es de D la media		20 %			25 %	

Las desviaciones máximas encontradas en el test Phycomyces representan el 35 por 100. Sin embargo, si en éste prescindimos de una determina-

ción muy discrepante la desviación máxima es sólo de 7,8 por 100 y es probable más exacto el método del Phycomyces.

Esto parece dar más exactitud al método del Phycomyces si se prescinde de esa prueba discrepante. En el fondo podemos decir que la aproximación en los dos casos es parecida, sobre todo teniendo en cuenta que en estos casos las discrepancias creemos se deben más que a error del método mismo, a falta de uniformidad en la suspensión preparada de levadura autolisada, y esto en cualquiera de los test comparados.

En cuanto a duración de una prueba, el método fermentativo es mucho más rápido, puesto que tal como fué hecho, bastan veintisiete horas a partir del momento en que se hace la siembra, y seguidamente puede pasarse. En el caso del Phycomyces hay que esperar diez días y proceder a la desecación posterior del micelio, invirtiéndose mucho más tiempo.

Con el Phycomyces se emplean más de diez días. Con todo, si hubiéramos dispuesto de más horas diarias, hubiera sido posible hacer una experiencia en el día.

No obstante, la preparación de los caldos es más lenta en caso de levaduras, para evitar se caramelice la glucosa.

No contamos el tiempo que se pierde en cada caso en preparar y rejuvenecer los cultivos de levadura o de Phycomyces. Todo esto se evita empleando levadura de panadería comercial, con lo que la rapidez y comodidad del método fermentativo seguido crecen considerablemente, aunque perdiendo exactitud, como dijimos.

En las experiencias anteriores (1) se midió el desprendimiento de gas por medio gravimétrico, usando matraces provistos de válvula de sulfúrico. Los fermentómetros de Van Iterson empleados son mucho más cómodos, pues la determinación volumétrica es rápida, casi inmediata, mientras que el uso de la balanza sabemos es pesado.

En este caso ha sido raro se estropee una experiencia por haber escape de gas, una vez se está familiarizado con los aparatos.

Además, debe sólo usarse la relación de pendientes para tener el verdadero resultado. Esto es aplicable a todos estos métodos, ya que la curva patrón no debe servir más que para mostrar la zona en la que el incremento del fenómeno observado es proporcional a la dosis de vitamina.

Tanto en las anteriores experiencias como en las actualmente reseñadas, se ha visto que una misma dosis de vitamina conocida, que en el medio sintético produce un incremento en la fermentación que da **a** c. c. supletorios de CO_2 (fermentación total = d + a c. c.), simultáneamente, y en presencia de determinadas substancias, en las que se ha destruído por el $SO_3 Na_2$ la aneurina, se

produce una fermentación total que da ahora $d' + a'$ c. c. de CO_2 donde $d' > d$ y $a' > a$:

La primera desigualdad es lógica, puesto que con substancia de que se trate se añaden microfactores que activan la fermentación. Y por ello creemos se debe a una interacción de los microfactores citados y a la vitamina B_1. Esto es lo que hemos llamado «mejor utilización de la vitamina B_1» en presencia de la yema de huevo, etc.

Para explicar esta anomalía, la citada mejor utilización de la tiamina, recordemos que:

«Las diversas vitaminas conocidas se influyen mutuamente, y a este respecto, no sólo la vitamina A, sino también otras del complejo vitamínico B y otras, son necesarias en el crecimiento de los animales, de tal suerte, que éstos se ven seriamente afectados por la ausencia de una cualquiera de esas vitaminas, y no de manera exclusiva por la falta de la A».

Análogamente puede ocurrir con la tiamina en el proceso fermentativo observado, y ésta puede ser, creemos, causa de probables errores en los métodos microbiológicos de determinación de vitaminas.

Es evidente que así como en estas experiencias hemos salvado dicha anomalía, en otros métodos microbiológicos podrá hacerse una cosa análoga.

En (1) se buscó si entre dichos microfactores que pudieran interferirse en la tiamina estarían el Zn, el Bo y la biotina, siendo los resultados totalmente negativos en el segundo caso y prácticamente también despreciables en los otros dos casos por faltar reiteración de experiencias ante muy pequeños incrementos observados en la fermentación.

Repetida la experiencia con el Zn, el resultado ha sido negativo, o sea, no determina una mejor utilización de la aneurina por la levadura.

Por tanto, como resumen, podemos decir que el método fermentativo parece menos exacto que en el caso del Phycomices, que es mucho más rápido, habiéndose encontrado errores en tanto por ciento de la media del orden del 7 % con levadura danesa, y hasta del 14 % con la comercial, siendo esos errores perfectamente tolerables.

Errores muy grandes, hasta 50 %, pueden tenerse si se produce la citada anomalía, pero ese error, por el procedimiento tantas veces dicho, se evita.

Si se quiere máxima rapidez, puede usarse levadura comercial, con resultado peor que en el caso de una en cultivo puro; en este caso se ha encontrado error de 14 % frente a 7 %.

Una causa de error que se produce entonces es que con la levadura comercial prensada se añade al medio de fermentar una serie de substancias no determinadas que estaban en el líquido a partir del cual se obtuvo dicha levadura prensada. Además no hay garantía ninguna en la pureza de éstas.

Los métodos fermentativos no requieren estufa de desecación; al revés que el del Phycomices, requieren, en cambio, otro material que éste no precisa: la válvula de sulfúrico o el fermentómetro, éste preferentemente, por la mayor rapidez, facilidad y seguridad.

Empleando suspensiones igualmente ricas y frescas de la levadura al sembrar, pueden compararse experiencias no simultáneas.

Si se siembra también con suspensiones de igual riqueza en Phycomyces, dicha comparación es posible.

BIBLIOGRAFIA

(1) **AZCARATE, G. DE A.** e **HIDALGO, A.**: Determinación de la vitamina B_1 mediante test con levaduras.

(2) **BARDEM, J. A.** y **SOLA, F. M. de:** Una prueba biológica para la vitamina B_1.

(3) **ESTABLIER COSTA.** 1940. Métodos de valoración de la vitamina B_1. **Trabajos del Instituto de Biología Animal.** V. Fas. 2 : 9.

(4) **EMEY, W. B., Mc. LEAD, N.** and **ROBINSON, F. A.** 1946. Comparative microbiological assays of members of the vitamin B. Complexin yeast and liver-extracts. **The Biochem Jours.** 40, n.º 3 : 426.

(5) **FEARON, W. R.:** Introducción a la Bioquímica.

(6) **GSTIMER, F.:** Métodos de determinación físicoquímica de las vitaminas.

(7) **NEVIN, S., NINCHAWS** and **WELLINGTON. J. Biol. Chem.**

(8) **NUGL** Zeitschiff für Physiologische Chemie H. S.

(9) **SCHOPHER.** Plants and Vitamins.

(10) **SCHULTZ, ATKIN** and **FREY.** 1937. A Fermentation test for vitamin B_1. **J. Amer. Chem. Soc.** 59-958.

(11) ——— **ATKIN** and **FREY.** 1937. A Fermentation test for vitamin B_1 I. **J. Amer. Chem. Soc.** 59-2.557.

(12) ——— **ATKIN** and **FREY.** 1938. Fermentation test for vitamin B_1 I. **J. Amer. Chem. Soc.** 60-3.084.

(13) ——— **ATKIN** and **FREY.** 1938. Fermentation test for vitamin B_1 I. **J. Amer. Chem. Soc.** 60-1.514.

(14) ——— **ATKIN** and **FREY.** 1942. Determination of vitamin B_1 by yeast fermentation. **Ind. Eng. Chem. Anal Ed.** 14-35.

(15) The Association of Vitamin Chemists Inc. 1947. Methods of Vitamin Assay.

(16) **WOOD, ERIC C.** 1945. **Nature.** 632.

ESTACION EXPERIMENTAL DE "AULA DEI", ZARAGOZA
C. S. I. C.

TRANSMISION DEL «BETA VIRUS 2» A PLANTAS DE NICOTIANA TABACUM, CON UN RESUMEN PREVIO DE LAS PRINCIPALES VIROSIS DE LA REMOLACHA

Félix Martínez Cordón.

Entre los virus que atacan a la remolacha han sido descritos por el Profesor K. M. Smith, de la Universidad de Cambridge (1), los siguientes: Beta virus 1 o «sugar beet curly-top virus»; Beta virus 2 o «sugar beet mosaic virus»; Beta virus 3 o «sugar beet leaf-crinckle virus»; Beta virus 4 o «sugar beet yellows virus»; Beta virus 5 o «sugar beet savoy disease virus».

Las características principales de estos virus, citadas por el referido autor, son las siguientes:

Beta virus 1.

Los síntomas que la infección de este virus produce en la planta Beta vulgaris comienzan por un arrollamiento hacia dentro de las partes bajas y bordes laterales de las hojas más jóvenes, el cual se extiende más adelante a toda la hoja, formando un rizamiento o abarquillamiento hacia el interior. Síntoma constante de la enfermedad es la transparencia de las venillas en las hojas más jóvenes de las remolachas infectadas, la cual empieza por una zona, terminando por extenderse a toda la hoja. Otro síntoma de esta enfermedad es la aspereza que toman las superficies inferiores de las hojas después que aparecen los síntomas de la transparencia de las venas, siendo ésta debida a la formación de unas pequeñas protuberancias en el envés. En algunos casos hay exudación de un líquido claro y viscoso en los peciolos y venas, que se transforma después en un líquido pegajoso de color negro, que al secarse forma una especie de costra en la superficie de las hojas. En las plantas afectadas por este virus se aprecia también un aumento en el número de raicillas, que le dan un aspecto de raíces velludas o lanudas. Si se corta transversalmente una remolacha afectada, se puede observar con frecuencia la formación de unos círculos negros concéntricos que alter-

nan con zonas claras; si el corte lo damos longitudinalmente, se ven unas zonas oscuras que se extienden todo a lo largo de la remolacha afectada.

Estos síntomas se presentan igualmente en las plantas de Beta vulgaris var. cicla, atacadas por el Beta virus 1.

Internamente ocasiona este virus una degeneración en el floema con hipertrofia y muerte de las células del pericicio adyacentes a los tubos cribosos, fenómeno que es denominado hipertrofia y necrosis primaria. Otro fenómeno que se presenta es el denominado hiperplasia primaria, consistente en un estímulo que presentan las células de los tubos cribosos en su división y crecimiento. También hay desintegración de sus núcleos y engrosamiento de las paredes celulares. Los tubos cribosos y las células próximas a ellos terminan por morir, produciéndose la necrosis secundaria.

Estos hechos indican evidentemente que el virus circula por el floema a través de los tubos cribosos.

Otra quenopodiácea afectada por este virus es la Spinacia oleácea, la cual muestra aclaramiento de las venas y arrollamiento de las hojas. La infección de este virus ocasiona la muerte de todas las plantas jóvenes de esta especie.

Entre las plantas silvestres pertenecientes a esta familia que son atacadas por este virus están citadas las siguientes: Atriplex bracteosa, Atriplex rosea, Atriplex argentea, Atriplex patula, Chenopodium leptophyllum, Chenopodium murale, Chenopodium ambrosioides y Salsola kali. Otras familias en las cuales hay plantas susceptibles al ataque de este virus son las siguientes:

Borragináceas, Crucíferas, Compuestas, Cucurbitáceas, Cariofiláceas, Amarantáceas, Dipsacáceas, Geraniáceas, Lináceas, Leguminosas, Malváceas, Poligonáceas, Solanáceas, Tropeoláceas, Umbelíferas, Valerianáceas y Violáceas.

Como plantas diferenciales para este virus se indican la Nicotiana tabacum y la Datura Stramonium, en las que se produce un aclaramiento de venas, quedando las plantas de tamaño reducido.

Hay ciertas plantas, como el Chenopodium murale, Rumex crispus, Suæda moquini, así como algunos tipos resistentes de remolacha, en los cuales ha sido comprobado que atenúan la virulencia de este virus. Este fenómeno fué descrito por primera vez por Carener y Stabl en 1924. Siendo comprobado por C. E. Lackey en 1932 que el virus atenuado puede recuperar su virulencia por paso a través de la planta Stellaria media. Bennett, estudiando las propiedades de este virus, encontró que su virulencia se

atenúa también cuando se calienta durante diez minutos a una temperatura de 76° C. a 79° C.

El virus es difícilmente transmisible por la savia de las plantas enfermas, siéndolo con más facilidad si se emplea para el inóculo jugo procedente del floema de las plantas atacadas; esto comprueba que el virus se halla confinado en aquella parte de las plantas, quedando libres los otros que siguen. A esto puede ser debido que el insecto vector de este virus sea el Eutettix tenellus, el cual se alimenta picando en el floema de las plantas. Parece que hay dos tipos de transmisión por este insecto: uno, considerado como puramente mecánico, que tiene lugar inmediatamente que el insecto pica en la planta enferma, y otro, que necesita un período de incubación de veinte a veinticuatro horas.

Este virus fué primeramente citado en América; no se ha encontrado en Europa; parece que se halla confinado en Norteamérica y Argentina.

Beta virus 2.

Este virus produce en las remolachas la enfermedad llamada mosaico de la remolacha. Los primeros síntomas que presentan son unas manchas amarillas de pequeño tamaño en las hojas centrales de las plantas, que forman también una especie de abigarramiento. Estos síntomas van acompañados de unos arrugamientos en las zonas de las hojas en que aparecen esas manchas amarillas; después aparece en las hojas jóvenes de las plantas un moteamiento amarillo que contrasta mucho con el fondo verde de la hoja; las hojas más viejas presentan también unas manchas o moteado de color verde pálido.

Un síntoma característico de esta enfermedad es la curvatura que presentan sus hojas en la proximidad del ápice y un rizamiento onduloso en sus bordes; esto va, generalmente, seguido del marchitamiento del ápice de las hojas, que termina por secarse. Cuando la enfermedad se presenta en forma más severa, las hojas quedan muy rizadas y distorsionadas, tomando las hojas jóvenes un aspecto tubular por el marcado rizamiento hacia abajo que presentan sus bordes. Las plantas quedan afectadas en su crecimiento, quedando mucho más pequeñas que las normales.

En las plantas de invernadero se notan los primeros síntomas en las hojas jóvenes, presentando un aclaramiento de sus venas, que quedan muy destacadas del fondo verde del resto de la hoja.

Internamente se manifiesta la infección por cambios anatómicos; el tejido en empalizada queda menos diferenciado del mesófilo y, reducido el número de espacios intercelulares, los núcleos celulares son también más pequeños que los

normales y, por el contrario, los cloropastos aumentan de tamaño. No se presentan necrosis del floema, y en algunas células se encuentran cuerpos de inclusión. Las hojas no presentan acumulamientos de almidón.

En algunos casos se ha observado en esta enfermedad el hecho curioso de que las plantas atacadas maduran más pronto que las plantas sanas.

En la Spinacia oleracea este virus comienza manifestándose por un arqueamiento hacia abajo de las hojas jóvenes, que va seguido por la aparición de manchas amarillas de un tono intenso, las cuales muestran con frecuencia un pequeño punto oscuro en su parte central. Estas manchas amarillas son de muy pequeño tamaño, pero en muchas ocasiones, como se presentan muy numerosas, se unen unas con otras, formando unas zonas amarillas bastante extensas.

Cuando la enfermedad progresa cesa el crecimiento de las plantas y se presentan necrosis sobre sus hojas, las cuales comienzan a secarse por el ápice; las hojas externas van muriendo, quedando la planta reducida a su parte central, formada por hojas con moteado amarillo y de pequeño tamaño. Este estado va seguido de la muerte de las plantas.

El período de incubación del virus en estas plantas varía de seis días a tres semanas.

Hay ciertas plantas silvestres que son atacadas por este virus, y pueden actuar como diseminadoras de la enfermedad; tales son el Chenopodium album. Amarantus retroflexus y Sonchus arvensis.

Este virus se transmite por la savia de las plantas enfermas; no es transmisible por semilla; los insectos vectores son el Myzus persicæ y el Aphis rumices; el poder transmisor lo pierden estos insectos rápidamente, necesitando alimentarse de nuevo en plantas enfermas; también se ha citado como posible transmisor el Macrosiphum gei.

La enfermedad se encontró primeramente en Francia, y actualmente se ha comprobado su existencia en toda Europa y Norteamérica.

Beta virus 3.

Los primeros síntomas de esta enfermedad en las plantas de Beta vulgaris son de una transparencia en las venas de sus hojas, siendo el crecimiento de estas venas más lento que el del resto de la hoja; ésta queda contraída y arrugada. Se nota un estímulo en la formación de nuevas hojas, que quedan curvadas y de tamaño reducido, presentando inflamado su parénquima. El período de incubación en la planta es de veintiuno a sesenta y cinco días.

Hay tres formas diferentes de presentarse la enfermedad, las cuales pueden ser debidas a tres mutaciones del Beta virus 3.

Algunas plantas de remolacha son inmunes a la enfermedad, pero tal inmunidad se ha demostrado que es individual, no teniendo nada que ver con la variedad de que se trata.

Las plantas silvestres de la familia de las Quenopodiáceas no son susceptibles a la infección; la espinaca ha sido citada como susceptible a la infección por este virus; se han logrado también infecciones artificiales a plantas del género Phaseolus.

El virus no es transmisible mecánicamente; el insecto vector es el Piesma quadrata, pero no en estado de larva; los adultos transmiten la enfermedad con sólo haberse alimentado una vez en una planta enferma, pudiendo conservar su poder infectivo durante todo un invierno.

Este virus está citado en Alemania y Polonia, pero hay algunas regiones de aquellos países en las que no ha sido encontrado este virus.

Beta virus 4.

En la Beta vulgaris aparecen los síntomas mediada la temporada, aproximadamente; generalmente, las plantas no presentan afectadas sus hojas jóvenes, lo cual constituye una diferencia con el Beta virus 2. En las hojas viejas se nota un cambio de color que toma primeramente un tono verde amarillento, para quedar después en un tono amarillo que se extiende por toda la hoja. Estos síntomas, que también pueden ser debidos a causas diferentes, como por ejemplo deficiencias de magnesio (2), van acompañadas cuando hay infección de virus por una modificación en la contextura de las hojas, que se hacen gruesas y quebradizas.

Las principales características de esta enfermedad son: amarilleamiento, engrosamiento y consistencia quebradiza de sus hojas, acumulamiento de almidón en las hojas, no hay aclaramiento de venas ni moteamiento; también las hojas de las plantas atacadas presentan zonas necrosadas, que varían según las condiciones ambientales.

El virus, hasta los trabajos de Kassanis en 1949 (3), no fué transmitido mecánicamente; no se transmite por la semilla; los insectos vectores son el Myzus persicæ y el Aphis rumices. Este virus pertenece al llamado tipo persistente.

Hay que hacer constar que en muchos casos que se presenta en estas plantas un amarilleamiento de sus hojas, que se cree debido a deficiencias minerales, es muy probable que en un gran porcentaje sean debidos a infecciones por este virus (4).

El Beta virus 4 se ha encontrado en Inglaterra, Alemania, Holanda y Dinamarca, siendo también probable que se encuentre en Norteamérica.

Beta virus 5.

Las plantas de Beta vulgaris que se hallan atacadas por este virus se presentan de un aspecto más pequeño y con sus hojas rizadas hacia abajo, en las cuales se observan también aclaramientos de sus venas y engrosamiento de sus venillas, lo que hace que tomen un aspecto de red. Las raíces presentan zonas necróticas.

El período de incubación de este virus es de tres a cuatro meses.

El virus no se transmite por el jugo de la planta; es transmitido por el insecto Piesma cinerea, que conserva su poder infectivo durante todo el invierno.

Esta enfermedad ha sido encontrada solamente en Norteamérica.

De todos los virus anteriormente descritos que atacan en Europa a las plantas de remolacha, son los más importantes los que causan las enfermedades del mosaico y del amarilleamiento de las remolachas, que son denominados Beta virus 2 y Beta virus 4, respectivamente.

CARACTERES COMUNES Y DIFERENCIALES ENTRE EL BETA VIRUS 2 Y EL BETA VIRUS 4.

Transmisión.

El Beta virus 2 es transmisible por la savia; el Beta virus 4 lo es solamente empleando procedimientos especiales (3); ninguno de los dos es transmisible por la semilla, y ambos lo son por los insectos Myzus persicæ y Aphis rumices, con la diferencia en esta forma de transmitirse de que el Beta virus 4 es del tipo persistente, y el Beta virus 2 no lo es.

Síntomas.

El Beta virus 4 no produce en las plantas de remolacha por él atacadas el aclaramiento de venas que produce el Beta virus 2; en el Beta virus 4 no se presentan síntomas en las hojas jóvenes, diferenciándose en esto de las infecciones debidas al Beta virus 2, que producen un moteado amarillo en dichas hojas; el Beta virus 4 produce en las hojas un amarilleamiento más uniforme, que se extiende por toda la superficie de la hoja; en cambio, en el Beta virus 2 no se presenta ese amari-

lleamiento de tipo uniforme, quedando los síntomas reducidos a un moteado más o menos intenso; en el Beta virus 4 hay engrosamiento de las hojas debido a un acumulamiento de almidón, quedando por ello las plantas con hojas quebradizas y crujientes.

Propiedades.

El Beta virus 2 presenta las propiedades siguientes:

Punto de inactivación termal.—Este virus se inactiva por exposición durante diez minutos a temperaturas comprendidas entre los 55° C. y 60° C.

Punto de inactivación por dilución.—Tolera una dilución de 1 : 1.000.

Resistencia al envejecimiento.—Resiste in vitro durante un tiempo de veinticuatro a cuarenta y ocho horas.

No hay información exacta referente a la resistencia que el Beta virus 2 presenta a la desecación, pero es dudoso que sea muy resistente a ella.

Como el Beta virus 4 no es normalmente transmisible por la savia de las plantas, no se conocen sus propiedades.

La planta Nicotiana tabacum está citada como diferencial para el Beta virus 2 por no ser susceptible a la infección (1). Sin embargo, Hoggam (5), trabajando en los Estados Unidos con áfidos de la especie Myzus persicæ procedentes de plantas atacadas del mosaico de las remolachas, cita la aparición en los tabacos de unas pequeñas manchas circulares de un tamaño de 1 a 2 mm. de diámetro, aproximadamente, de color parduzco, con necrosis central, que aparecen sobre las hojas de dicha planta. Estos síntomas quedan localizados en el punto donde se produce la picadura del áfido, sin producirse infección sistemática.

DESCRIPCION DE LAS EXPERIENCIAS.

En las experiencias descritas a continuación se han logrado síntomas producidos por el virus del mosaico de la remolacha sobre plantas de Nicotiana tabacum, que difieren de los descritos por Hoggan.

Transmisión por insectos.

Sobre una planta de remolacha que se hallaba en el campo presentando síntomas sospechosos de padecer el mosaico de las remolachas, se pusieron a

picar pulgones de la especie Myzus persicœ que habían sido criados en insectario sobre plantas sanas. Estos áfidos fueron trasladados, después de dos días a plantas sanas de tabaco, remolacha y quenopodium, utilizando dos plantas de cada especie y dejando los pulgones durante cuatro o seis días sobre dichas plantas.

Resultados.—Al cabo de doce días comenzaron a presentar síntomas las plantas de remolacha y tabaco que fueron inoculadas; las remolachas presentaron los síntomas típicos del mosaico y los tabacos mostraban en sus hojas unas manchas cloróticas, que al principio hicieron pensar que se trataba de una infección debida al virus del mosaico del pepino Cucumis virus 1, pero que después se vió que no eran debidas a este virus. (Fotografía núm. 1.) Las plantas de quenopodium no presentaron síntomas.

Transmisión por savia.

Transcurridos ocho días de la aparición de los referidos síntomas, se hicieron las inoculaciones siguientes: Se tomó una de las manchas amarillas aparecidas sobre las hojas de tabaco, que fué separada de la planta recortándola por medio de un bisturí estéril y se exprimió a continuación sobre un portaobjetos esmerilado y esterilizado; al jugo así obtenido se le añadió una gota de agua destilada, inoculando después con él dos tabacos, dos remolachas, dos daturas y dos quenopodium, utilizando la celita como abrasivo

Resultados.—A los doce días justos de las anteriores inoculaciones presentó una de las plantas de tabaco sobre una de sus hojas cuatro manchas amarillas; también uno de los quenopodium dió resultado positivo, presentando en sus hojas jóvenes un aclaramiento de venas, el cual fué extendiéndose paulatinamente. Las daturas continuaron normales y las remolachas presentaron los síntomas típicos del mosaico. (Fotografía núm. 2.)

Recuperación del virus por medio de los áfidos.

Después de haber estado alimentándose durante tres minutos sobre las manchas amarillas de las hojas de los tabacos anteriormente inoculados, fueron trasladados áfidos de la especie Myzus persicœ a plantas sanas de remolacha, tabaco y glutinosa; se emplearon cinco plantas de cada una de estas especies; los áfidos procedían de insectario, y estuvieron sin alimentarse durante varias horas antes de ser empleados para las inoculaciones. El motivo de haber permanecido los áfidos solamente tres minutos sobre la planta enferma es porque el virus del mosaico de la remolacha es óptima-

mente infectivo cuando estos insectos se alimentan durante pocos minutos sobre las plantas infectadas. Aun cuando el poder infectivo de los áfidos en este virus se pierde rápidamente, es posible mediante un solo insecto ocasionar la infección a varias plantas (6).

Resultados.—Los síntomas de estas últimas inoculaciones se manifestaron a los once días; las remolachas presentaron los síntomas típicos del mosaico, los tabacos las manchas amarillas en sus hojas, del mismo tipo que las producidas en todos los tabacos de esta experiencia. Las glutinosas continuaron normales.

Nuevas series de inoculaciones de comprobación.

Con jugo procedente de las remolachas de la primera serie de inoculaciones que fué efectuada con los pulgones procedentes de la planta encontrada en el campo se inocularon tres plantas de remolacha y otras tres de tabaco, empleando la celita como abrasivo.

Descripción de los síntomas en remolacha.—Al cabo de seis días de estas últimas inoculaciones aparecen los primeros síntomas de infección en las remolachas; estas plantas presentan un aclaramiento de las venas y un moteado amarillo en la superficie de sus hojas; este moteado lo presentaron en las hojas más viejas de las plantas, y el aclaramiento de venas en las más jóvenes; también se produjo un rizamiento en los bordes de las hojas y un arrugamiento en las zonas amarillas; las hojas no presentaban variaciones en su contextura, quedando de un grosor normal y sin consistencia quebradiza. Estos últimos síntomas, que no aparecieron en esta experiencia, son típicos del «sugar beet yellows virus», con el cual, como se ve, presenta diferencias notables. Los síntomas los presentaron igualmente todas las remolachas que fueron inoculadas.

Descripción de los síntomas en tabaco.—Las plantas de Nicotiana tabacum presentaron síntomas de infección a los once o doce días de sus inoculaciones. Estos síntomas consistieron en la aparición en la superficie anterior de sus hojas de unas manchas amarillas redondeadas de un tamaño variable, de contornos a veces bien definidos y difusos en algunos casos; estas zonas amarillas se extienden sobre las venas de las hojas, presentando una zona verde central. También pueden apreciarse sobre las hojas algunas lesiones necróticas muy pequeñas y en escaso número. No se presentó aclaramiento de venas ni deformaciones de las hojas.

Observaciones microscópicas.

Con las plantas de tabaco infectadas se hicieron preparaciones microscópicas, tomando los cortes preferentemente de las zonas amarillas que pre-

sentaban las hojas; se hicieron tres series de preparaciones con diferentes plantas, empleando como colorante una disolución acuosa de floxina. Ni en los cortes teñidos previa fijación, ni en las tinciones vitales que se efectuaron, aparecieron inclusiones intracelulares de ningún tipo.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como puede apreciarse en las fotografías que se acompañan, las lesiones producidas sobre las hojas de los tabacos inoculados son de un tipo no descrito hasta ahora en las infecciones de este virus.

Queda comprobado que en aquellas lesiones se halla presente el virus, ya que las plantas de Beta vulgaris inoculadas con el jugo obtenido de dichas zonas presentaron síntomas de infección (fotografía núm. 2).

Podía existir la posibilidad de que la planta primitiva estuviese también atacada por el Cucumis virus 1 o por «sugar beet yellows virus»; estas posibilidades quedaron descartadas en vista de los síntomas que presentaron las plantas, muy diferentes a los prodcidos por estos dos virus.

El Cucumis virus 1 produce en Datura estramonium, a los cinco o siete días de su inoculación, unas manchas pálidas, que van seguidas a los dos días de su aparición de un moteado en forma de mosaico, juntamente con unos círculos cloróticos Estos círculos, que no son nunca necróticos, se presentan con mucha frecuencia concéntricos.

Sobre las hojas inoculadas de Nicotiana tabacum, este virus produce unas manchas circulares de color verde pálido, que se presentan dos o tres días después de la inoculación; no produce lesiones necróticas; la infección se hace sistemática, presentándose en las plantas inoculadas un aclaramiento de las venas, seguido de un suave moteado por toda la hoja.

En Nicotiana glutinosa produce algunas necrosis; el moteado en algunas ocasiones se hace severo, formándose también algunas veces sobre las hojas unas zonas de color verde oscuro; las plantas infectadas quedan de un tamaño reducido.

El «sugar beet yellows virus» no produce en las plantas de remolacha por él atacadas aclaramiento de las venas ni síntomas en sus hojas jóvenes; produce, como ya se ha indicado, un amarilleamiento que se extiende por toda la superficie de las hojas, las cuales, debido a un acumulamiento de almidón, se presentan más gruesas que las de planta normal, haciéndose quebradizas y crugientes.

Las inoculaciones llevadas a cabo con este virus sobre plantas de Beta vulgaris, han producido síntomas que no coinciden con el «sugar beet yellows virus»; por el contrario, han producido los síntomas clásicos del mosaico

de las remolachas. Las diferencias que existen entre estas dos enfermedades se ven claramente en los síntomas que presentan las dos hojas de remolacha mostradas en las fotografías adjuntas, una atacada por el «sugar beet yellows virus» y otra por el «sugar beet mosaic virus» (fotografías 3 y 4), que, al compararlas con la fotografía de la planta inoculada con el virus de esta experiencia, se ve la identidad que presentan sus síntomas con el último de los anteriormente citados.

También quedó descartado el Cucumis virus 1, puesto que no se han producido síntomas en Datura stramonium, y aun cuando en tabaco produce unas manchas amarillas, son distintas a las descritas en el Cucumis virus 1, que además se producen mucho más tarde en el virus de esta experiencia. Por otra parte, la infección que en esta planta ocasiona el Cucumis virus 1 produce otros síntomas, como son el aclaramiento de venas y moteado sistemático, que no se han producido en este caso. Tampoco las plantas de Nicotiana glutinosa inoculadas presentaron necrosis, ni síntoma alguno de infección.

Si comparamos los resultados obtenidos en esta experiencia con los que produce el virus del mosaico de la remolacha en las plantas inoculadas, podemos ver se identifican con los descritos para esta enfermedad, lo cual indica, por lo tanto, que en las zonas amarillas producidas en los tabacos se halla presente dicho virus, ya que partiendo de ellas se produce el mosaico de la remolacha en las plantas de esta especie.

Si analizamos el motivo por el cual se ha logrado la transmisión del Beta virus 2 a plantas de tabaco, veremos que pueden haber influído, entre otras, dos causas diferentes; una, que el virus del mosaico de la remolacha empleado en esta experiencia sea alguna nueva raza o variación debida a alguna mutación sufrida por el virus en la planta de la que se obtuvo el primer inóculo, y cuya mutación pudo ser ocasionada por las condiciones anormales en que vivía la planta, pudiendo así producirse un nuevo tipo de virulencia más fuerte, que presenta la propiedad de atacar a plantas que, como el tabaco, no habían sido descritas como susceptibles a la infección de este virus en Inglaterra, no obstante haberlo intentado experimentalmente. También pudo suceder que al mismo tiempo que el virus del mosaico de la remolacha se hallase presente en aquella planta el «sugar beet yellows», el Cucumis virus 1 o algún otro que no se puso de manifiesto en las inoculaciones experimentales, y que pudo influir en la transmisión al tabaco del virus del mosaico de las remolachas, pero que al intentar volverlo de nuevo a la remolacha procedente de los tabacos no pudo logarse por no haberse multiplicado en estas plantas, o que por multiplicarse más lentamente, quedasen los tabacos más rápidamente infectados por el Beta virus 2, quedando así las plantas como si dijéramos

saturadas por este virus, el cual impidiese la multiplicación del otro virus acompañante.

Un caso de influencia que un virus ejerce en la transmisión de otro se halla citado en la enfermedad compleja llamada roseta del tabaco (7), que es producida por dos virus. Se ha demostrado que cuando los dos virus que forman aquel complejo se hallan separados en diferentes plantas, solamente uno de ellos es transmisible por los pulgones, sucediendo el hecho curioso de que para que el otro virus sea transmisible por este medio es necesaria la presencia en la misma planta del otro componente que forma el complejo de la referida enfermedad.

En el caso de que fuese el Cucumis virus 1 el que estuviese presente, es muy probable que se hubiesen puesto de manifiesto sus síntomas en algunas de las diferentes plantas inoculadas, ya que su tiempo de inoculación es muy corto en algunas de ellas. Por otro lado, si el «sugar beet yellows virus» hubiese sido el que se hallaba presente, es muy posible que sus síntomas hubiesen aparecido juntamente con los del mosaico de la remolacha, como sucede con relativa frecuencia en los cultivos de estas plantas; las plantas infectadas con ambos virus muestran síntomas del «yellows» en las hojas más viejas, de mosaico en las más jóvenes, y de ambas enfermedades en las hojas intermedias (2).

Por lo tanto, la hipótesis más probable es la primera; es decir, que se trate de una modificación del Beta virus 2, y que este virus, o bien se hallase solo en la planta de origen, o que dicha modificación impida el desarrollo normal de otros virus que pudiesen hallarse presentes en aquella planta.

* * *

Quiero expresar mi agradecimiento a Mr. F. C. Badwen, Director del Departamento de Patología Vegetal de la Rothamsted Experimental Station, de Harpenden (Inglaterra), y al Dr. M. A. Watson, del mismo Departamento, por las facilidades e indicaciones recibidas durante la realización de esta experiencia.

RESUMEN

Se describe una experiencia sobre la transmisión del Beta virus 2 a plantas de tabaco. Ello se logró por medio de la savia y de los áfidos de la especie Myzus persicæ, consiguiendo que algunos de ellos transmitiesen este virus después de haber estado alimentándose sobre una planta de Beta vulgaris encontrada en el campo, atacada del mosaico de la remolacha.

Fig. 1.

Plantas de N. tabacum, variedad White Burley, infectadas experimentalmente por medio del pulgón Myzus persicæ, con el Beta virus 2, mostrando los síntomas de la enfermedad.

Fig. 2.

Planta de Beta vulgaris, inoculada con el virus de esta experiencia, con los síntomas típicos de la enfermedad del mosaico de la remolacha.

Fig. 3

Hoja de Beta vulgaris, en la que pueden apreciarse las zonas amarillas debidas a la infección con el Beta virus 4, o virus del amarilleamiento de la remolacha.

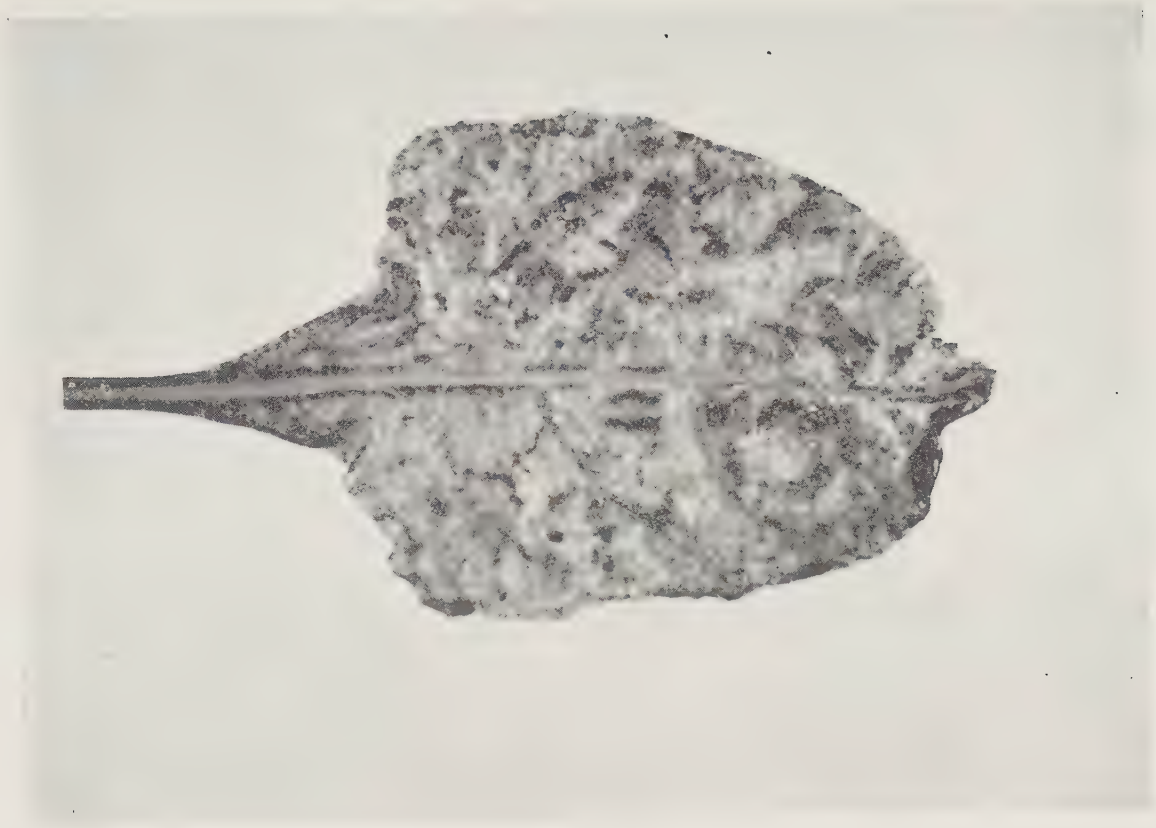


Fig. 4.

Hoja de Beta vulgaris con los síntomas típicos del mosaico de la remolacha, causados por el Beta virus 2.

La comprobación de que el virus transmitido a los tabacos era el del mosaico de la remolacha se logró por haber sido posible la recuperación de este virus de los tabacos y su transmisión a remolachas, mostrando en estas plantas el comportamiento y los síntomas típicos de esta enfermedad; además, todos los resultados obtenidos en las inoculaciones de comprobación sobre diferentes plantas diferenciales indican que se trata de este virus.

SUMMARY

An experiment is described that deals with the transmission of the Beta virus 2 to tabacco plants. This was obtained by means of sap and aphids of the Myzus persicæ species; some of them transmitted this virus after having lived on Beta vulgaris plants, attacked by the sugar beet Mosaic.

At it was possible to recuperate this virus from tobacco plants, transmitting it again to sugar beets, it was proved that this was the sugar beet Mosaic virus because it presented in these plants the behaviour and typical symptoms of this disease. Moreover all the results obtained in the test inoculations on various differential plants indicate that the virus in question is the sugar beet Mosaic virus.

REFERENCIAS

(1) **SMITH, K. M.** 1937. A Tex Book of Plant Virus Diseases.

(2) **HULL, R.** 1950. Sugar Beet Diseases.

(3) **KASSANIS, B.** 1949. The transmission of sugar beet yellows virus by mecanical inoculation. **Ann. App. Biol.** 36: 270-272.

(4) **SMITH, K. M.** 1947. Virus Diseases of Farm. and Garden Crops.

(5) **HOGGAN, I. A.** 1933. Some viruses affecting Spinach and certain aspects of insect transmission. **Phytopathology,** 23, 446-474.

(6) **WATSON, M. A.** 1946. The transmission of beet mosaic and beet yellows viruses by aphides; a comparative study of a non persistent and a persistent virus having host plant a vector in common. **Proc. Roy. Soc.** B. 133, 200-219.

(7) **SMITH, K. M.** 1945. Transmission by Insects of a Plant Virus Complex. **Nature,** 155, 174.

INFORMACION

ACTAS DE LA SOCIEDAD

MADRID

Acta de la sesión celebrada el día 22 de octubre de 1951.

Bajo la presidencia de don Antonio Ruiz Falcó, se abre la sesión en una sala de los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, sitos en Medinaceli, 4, a las diecinueve horas.

Se aprueba el acta de la sesión anterior. El señor Hidalgo Granados da lectura a su trabajo «Determinación de la vitamina B_1 mediante test con levadura». A continuación, el señor Martínez Díez lee el suyo: «La paja de cereales como materia prima para la fabricación de levaduras pienso». El señor Ibáñez presenta una comunicación en colaboración con el señor Megías, acerca de «Estudio de la actividad de mezclas de antibióticos y quimioterápicos (I)», a la que solicita el señor Socías algunas aclaraciones, que son contestadas por el comunicante.

El señor Rubio da lectura a dos comunicaciones: la primera, de los señores Martínez, Romero y Monzón, de Sevilla, sobre «Procesos químicos y microbiológicos en la fermentación de las aceitunas sevillanas», y otra de los señores Martínez, Romero y señorita Garrido acerca de «Levaduras en los procesos de fermentación del aderezo de aceituna». Por último, el señor Martínez Cordón presenta tres trabajos propios: «Una nueva enfermedad compleja que produce efecto letal sobre N i c o t i a n a t a b a c u m», «Nuevos síntomas de la enfermedad D o c k m o s a i c» y «Transmisión del virus del mosaico de la remolacha a plantas de N i c o t i a n a t a b a c u m».

Son admitidos como socios los siguientes señores: don Julián Marín Bilbao, Farmacéutico, de Bedmar (Jaén), admitido por petición directa al señor Presidente; don Carl B. Umanzio, Profesor de Bacteriología y Micología de Kirkswille, Missouri, presentado por los señores Moreno de Vega y Vilas; don Miguel Martínez y Martínez, Director del Laboratorio del Colegio de Farmacéuticos de Sevilla, presentado por don Benito Regueiro y don Lorenzo Vilas; don Félix

Martínez Cordón, Doctor en Farmacia, de Zaragoza, por don Lorenzo Vilas y don Miguel Rubio; don Faustino Cordón Bonet, Doctor en Farmacia; don Joaquín Seoane Porrúa, Licenciado en Farmacia, y don Fernando Ruiz Falcó, Licenciado en Medicina, los tres de Madrid, presentados por don Antonio Ruiz Falcó y don Gonzalo Urgoiti Somovilla.

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión a las veintiuna quince horas.

BIBLIOGRAFIA

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. En este número se recogen los títulos correspondientes al tomo 73 (1947) de **Annales de l'Institut Pasteur** (Biblioteca del Instituto de Edafología, I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Sociedad de Microbiólogos Españoles puede facilitar a los señores socios reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir al Secretario de la Sociedad, Serrano, 113, Madrid, precisando el número en negrita que encabeza el artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

2.259

STAUB (A. -M.) et **GRABAR (P.)**.—1947. Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse.—VII. Utilisation d'études quantitatives pour suivre l'épuisement d'un immunsérum par un mélange d'antigènes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1-6. I. E.

2.260

DELAUNAY (A.), PAGES (J.) et **MAURIN (M.)**.—1947. Etude d'un sérum antileucocytaire. Mise au point d'une nouvelle méthode de titrage, mécanisme de son action *in vivo*. Nouvelles observations sur l'inhibition de la diapédése. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 7-13. I. E.

2.261

LASFARGUES (E.) et **DELAUNAY (A.)**.—1947. Cultures de tissus appliquées a la solution de problèmes immunologiques.—III. Nouvelles recherches sur le tactisme des macrophages *in vitro*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 14-22. I. E.

2.262

KOSSOVITCH (N.) et **EYQUEM (A.)**.—1947. Le facteur «Rh», sa répartition chez les parisiens et les lois de son hérédité. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 23-28. I. E.

2.263

POCHON (J.) et TCHAN (Y. T.).—1947. Recherche sur l'activité relative des microorganismes cellulolytiques aérobies et anaérobies dans le sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 29-36. I. E.

2.264

POCHON (J.) et TCHAN (Y. T.).—1947. Recherches sur la nutrition carbonnée des azotobacter. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 37-41. I. E.

2.265

VELU (H.), COMANDON (J.), FONBRUNE (P. de), JANOT (M.), PENAU (H.), MAINIL (J.) et BOUET (G.).—1947. Essais de dissociation et de sélection de penicillium notatum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 42-48. I. E.

2.266

BOIRON (H.).—1947. Contribution au diagnostic et au traitement de la fièvre récurrente a spirochaeta duttoni dans l'agglomeration de Dakar. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 49-57. I. E.

2.267

LAUNOY (L.) et Mlle. PRIEUR (M.).—1947. Sur l'action trypanocide spéciale de certains dérivés de la phénanthridine pour T. Congolense. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 58-64. I. E.

2.268

PREVOT (A. R.) et RAYNAUD (M.).—1947. Recherches sur la chromogénèse de Clostridium corallinum P. et R. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 65-66. I. E.

2.269

PREVOT (A. R.) et RAYNAUD (M.).—1947. Etude d'une variété de dialister pneumosintes isolée d'une septicemie mortelle avec abcés du poumon et du cerveau. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 67-68. I. E.

2.270

ROLAND (F.).—1947. Comparaison de la gelose au vert brillant (Kauffmann) et de la gelose S. S. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 68-70. I. E.

2.271

ROTACH (F.).—1947. Contribution a la classification sérologique des bacilles de la tuberculose aviaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 71-73. I. E.

2.272

TCHAN (Yao-Tseng).—1947. Technique nouvelle pour l'étude des bacteries oxydant les hyposulfites dans le sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 74-76. I. E.

2.273

BOCAGE (A.), MERCIER (P.) et PILLET (J.).—1947. L'anatoxine staphylococcique purifiée. Résultats cliniques et sérologiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 77-78. I. E.

2.274

SEIGNEURIN (R.).—1947. Evolution de l'activité diastasique des filtrats de certaines cultures dans les heures qui suivent leur ensemencement. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 79-81. I. E.

2.275

SEIGNEURIN (R.), CARRAZ (G.), ROUX (A.) et SYNDICO (S.).—1947. De l'action bactériostatique in vitro des extraits de levure de bière et de bactéries du vinaigre. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 81-82. I. E.

2.276

LEPINE (P.), VIALA (Ch.) et SAUTTER (V.).—1947. Application de la pénicilline au diagnostic de la rage par inoculation intracérébrale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 82-83. I. E.

2.277

BOURGAIN (M.).—1947. Contribution a l'étude de la vitalité des spirochètes récurrents. Survivance de Spirochaeta persica Dschunkowsky 1912, en organes réfrigérés ou putréfiés de cobayes infectés expérimentalement. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 84-86. I. E.

2.278

LUTZ (A.).—1947. Dénaturation du plasma par le formol et la chaleur. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 87-88. I. E.

2.279

MANIGAULT (P.), MAGROU (J.) et MARIAT (F.).—1947. Utilisation au laboratoire de lampes fluorescentes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 89-93 I. E.

2.280

MACHEBOEUF (M.), PREVOT (A. R.), RAYNAUD (M.) et COHEN (G. N.).—1947. Etude chromatographique du pigment de Cl. corallinum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 93-94. I. E.

2.281

COHEN (G. N.) et RAYNAUD (M.).—1947. Etude spectrographique du pigment de Cl. corallinum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 95-98. I. E.

2.282

BELIN (M.).—1947. Contribution a l'étude de Listeria monocytogenes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 99-101. I. E.

2.283

LEGROUX (R.), BOVET (D.) et LEVADITI (J. C.).—1947. Présence d'histamine dans la chair d'un thon responsable d'une intoxication collective. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 101-104. I. E.

2.284

LEGROUX (R.) et LEVADITI (J. C.).—1947. Le botulisme expérimental du chien et la question du botulisme naturel. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 105-115. I. E.

2.285

LOISELEUR (J.) et Mlle. LEVY (M.).—1947. La spécificité des anticorps consécutifs a l'injection directe de molécules organiques de faible poids moléculaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 116-140. I. E.

2.286

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1947. A propos de la synergie des anticorps. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 141-153. I. E.

2.287

GALLUT (Jean).—1947. Recherches sur le potentiel d'oxydoréduction du vibrion cholérique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 154-168. I. E.

2.288

LASFARGUES (Etienne), BOQUET (Paul) et DELAUNAY (Albert).—1947. Cultures de tissus appliqués a la solution de problèmes immunologiques.—IV. Réactions tuberculiniques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 169-173. I. E.

2.289

RAYNAUD (J.) et RAYNAUD (A.).—1947. Etude histologique des lésions des glandes salivaires observées chez quelques espèces de campagnols appartenant aux genres Microtus et Evotomys. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 174-185. I. E.

2.290

TISON (F.).—1947. Comparaison des méthodes d'inoculation aux cobayes pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats supériorité de l'inoculation du produit non modifié chez le cobaye traité par les sulfamides. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 186-188. I. E.

2.291

COLETSOS (P. -J.).—1947. De certaines difficultés dans le diagnostic bactériologique des tuberculoses paucibacillaires. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 188-191. I. E.

2.292

RAYNAUD (Marcel).—1947. Au sujet de la substance toxique neurotrope du bacille typhique (Eberthella typhosa). II. Etude du pouvoir antigénique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 191-195. I. E.

2.293

BONNEFOI (A.), LE MINOR (L.) et GRABAR (J.).—1947. Le bacille de danysz dans la classification des Salmonella. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 195-196. I. E.

2.294

ROLAND (Fredy).—1947. Les tests de wood pour le diagnostic rapide des Shigellas. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 197-200. I. E.

2.295

PERARD (Chales Henry). (1885-1944).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 201-204. I. E.

2.296

MOREL (Madeleine). (1917-1944).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 205-206. I. E.

2.297

LEMOIGNE (Maurice), Mme. CROSON (Madaleine) et Mlle. LE TREIS (Micheline). 1947. Action inhibitrice de l'oxygène sur l'utilisation de l'azote nitrique par un bacille aérobie strict, Bacillus megatherium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 207-214. I. E.

2.298

ROUYER (M.) et GRABAR (P.).—1947. Etude du mécanisme de l'action des ultrasons sur les microbes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 215-221. I. E.

2.299

PREVOT (A. R.), ZIMMES (J.), PEYRE (M.) et LANTHIEZ (C.).—1947. Etude des anaérobies isolés des boues méthanogènes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 222-227. I. E.

2.300

ROSSET (Willy).—1947. Cultures en milieux pauvres d'une variété de bacilles paratuberculeux (bacille de grassberger). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 228-234. I. E.

2.301

ANDREJEW (A.).—1947. Les échanges respiratoires de bacilles tuberculeux de souches différentes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 235-241. I. E.

2.302

TCHANG (Yao-Tseng).—1947. Contribution a l'étude de l'influence de l'hyposulfite de sodium sur quelques groupes de microorganismes utiles du sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 242-258. I. E.

2.303

BONNEFOI (A.) et Mme. GRABAR (J.).—1947. Controle de l'efficacité des vaccinations antitypho-paratyphoidiques: le test de séro-protection. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 259-265. I. E.

2.304

BERTRAND (M. Didier).—1947. Sur la propriété et la nature de la laccase. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 266-274. I. E.

2.305

AITOFF (Mme.).—1947. Action antibiotique, non spécifique, de filtrats de quelques microbes pathogénes in vitro. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 275-280.

2.306

PREVOT (A. R.) et BONNEFOI (A.).—1947. Le centre de collection de types microbiens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 280-286. I. E.

2.307

BONNEFOI (A.), GRABAR (J.) et LE MINOR (L.).—1947. Vaccinotherapie et sérotherapie antigonococciques. I. Méthodes d'isolement et d'identification du gonocoque. Milieux de conservation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 286-290. I. E.

2.308

BRISOU (J.) et MAGROU (E.).—1947. Les variétés de «coliformes» dans leurs rapports avec l'hygiène des aliments. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 290-291. I. E.

2.309

BRISOU (J.) et MAGROU (E.).—Sur la valeur diagnostique de l'agglutination V; dans les infections typho-paratyphoidiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 292-293. I. E.

2.310

MANIL (P.).—1947. Action négative, sur le virus de la mosaique du tabac, de la pénicilline et du prontosil. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 294-296. I. E.

2.311

LEMETAYER (E.), NICOL (L.), JACOB (L.), GIRARD (O.) et CORVAZIER (R.).—1947. Immunité antitoxique transmise de la jument au poulain. Cas particulier de l'immunité des juments vaccinées contre le tetanos. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 297-322. I. E.

2.312

LWOFF (André) et MONOD (Jacques).—1947. Essai d'analyse du rôle de l'anhydride carbonique dans la croissance microbienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 323-347. I. E.

2.313

WOLLMAN (Elie).—1947. Relations entre le pouvoir de synthetiser la proline et la resistance au bactériophage chez des mutants d'*Escherichia coli*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 348-363.

2.314

BUTTIAUX (René) et MIEGE (Jeannine).—1947. Mise en evidence du B. de Morgan dans les eaux saumatres. (Origine hydrique possible des contaminations humaines.) **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 364-372. I. E.

2.315

ABOLNICK (Dr. S. A.).—1947. La prévention de la tuberculose par le B. C. G. en U. R. S. S. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 373-378. I. E.

2.316

MUTSAARS (W.).—1947. Recherches concernant l'alexine. I. Résistance au chauffage du chainon moyen fixé sur les globules rouges sensibilisés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 379-389. I. E.

2.317

PREVOT (A. R.), BEERENS (H.) et ZIMMES-CHAVEROU (J.).—1947. Etude des caractéres morphologiques, physiologiques et biochimiques de *Spherophorus varius*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 390-391. I. E.

2.318

BRECHOT (P.), APPERT (J.) et Mlle. PLESSIS (A.).—1947. Détermination des acides volatils par la méthode de duclaux. Cas de l'acide valérianique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 391-395. I. E.

2.319

SEGRETAIN (G.).—1947. Sur un *Trichophyton rubrum* d'origine africaine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 395-397. I. E.

2.320

SEDALLIAN (P.) et CARRAZ (R.).—1947. Homogénéisation des crachats et des exudats pathologiques par la digestion papainique en vue de la recherche du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 398-399. I. E.

2.321

SEDALLIAN (P.), BERTOLLE (A.) et Mlle. MARK.—1947. Sur le cycle d'apparition des bacilles typho-paratyphiques dans les selles au cours de la phase aigue de la dothienenterie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 399-402. I. E.

2.322

ANDRIEU (M. M.), AVERSENQ, Mlle. ENJALBERT et MONNIER (M.).—1947. Un procédé de stabilisation de l'antigène o pour la pratique du séro-diagnostic qualificatif de la fièvre typhoide. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 402-404. I. E.

2.323

LASFARGUES (E.) et DELAUNAY (A.).—1947. Trephones d'origine microbienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 404-407. I. E.

2.324

TISON (F.).—1947. Culture du bacille de Koch a partir des crachats non modifiés en présence de pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 407-408. I. E.

2.325

PREVOT (A. R.).—1947. Etude de quelques bactéries anaérobies nouvelles ou mal connues. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 409-418. I. E.

2.326

THIBAULT (P.), ROLAND (F.) et Mlle. BOURBON (D.).—1947. Contribution a l'étude de Sh. alkalescens. Ses caractères de culture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 419-429. I. E.

2.327

STAUB (A.).—1947. Un milieu sterilisable a l'autoclave pour la culture du microbe de la peripneumonie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 430-432. I. E.

2.328

CHAUSSINAND (R.).—1947. A propos des essais de culture du bacille de la lèpre. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 433-438. I. E.

2.329

DELBOVE (P.) et REYNES (V.).—1947. Recherches expérimentales sur l'évolution simultanée de l'infection tuberculeuse et des infections typhoesanthématiques chez le cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 439-450. I. E.

2.330

MUTSAARS (W.) et BARTHELS-VIROUX (J.).—1947. Recherches sur un facteur favorisant la destruction du troisième composant du sérum chauffé de cobaye par le venin de cobra. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 451-471. I. E.

2.331

BERTRAND (MM. Gabriel) et BERTRAND (Didier).—1947. Recherches sur le rubidium des phanérogames. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 472-477. I. E.

2.332

BERTRAND (MM. Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1947. Variation de l'acide acétique du bois avec l'age. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 479-480. I. E.

2.333

PREVOT (A. R.), RAYNAUD (M.) et DIGEON (M.).—1947. Sur une nouvelle espèce anaérobie. Ramibacterium pleuriticum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 481-483. I. E.

2.334

ANDREJEW (A.).—1947. Pouvoir antibiotique de l'autolysat de l'actinomyces a l'égard du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 483-485. I. E.

2.335

GASTINEL (P.) et NEVOT (A.).—1947. Influence sur l'apparition de l'allergie cutanée chez le cobaye de la voie d'inoculation des bacilles tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 485-488. I. E.

2.336

NICOLLE (Pierre) et FAGUET (Michel).—1947. La synergie lytique de la pénicilline et du bactériophage, étudiée au microbiophotomètre. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 490-495. I. E.

2.337

FAGUET (M.).—1947. Nouveau dispositif assurant l'homogenéité des cultures étudiées au microbiophotomètre. Application a la bactériophagie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 495-496. I. E.

2.338

GUELIN (A.).—1947. Inactivation du bactériophage par les bactéries sensibles en présence d'électrolytes. 73: 496-503. I. E.

2.339

GUELIN (A.).—1947. Inactivation du bactériophage par les autolysats bactériens et par un polysaccharide d'origine non bactérienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 503-507. I. E.

2.340

GUELIN (A.) et LE BRIS (J.).—1947. Indications fournies par le bactériophage sur l'état sanitaire des eaux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 508-511. I. E.

2.341

SIMOND (Paul Louis). (1885-1947). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 513-516. I. E.

2.342

LWOFF (André) et AUDUREAU (Alice).—1947. Recherches enzymatiques sur les mutations bactériennes. II. Le métabolisme des diacides chez la forme normale et le mutant «succinate» de Moraxella lwoffi. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 517-554. I. E.

2.343

DELAUNAY (A.) et LEBRUN (J.).—1947. Le mode d'action des endotoxines bactériennes. I. Introduction a une étude générale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 555-564. I. E.

2.344

DELAUNAY (A.), LEBRUN (J.) et COTEREAU (H.).—1947. Le mode d'action des endotoxines bactériennes. II. Les troubles circulatoires chez les animaux intoxiqués par une endotoxine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 565-574. I. E.

2.345

BERTRAND (MM. Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1947. Variation du méthanol du bois avec l'age. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 575-576. I. E.

2.346

LURIA (S. E.).—1947. L'étude des mutations bactériennes a l'aide du bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 577-579. I. E.

2.347

GIUNTINI (J.), LEPINE (P.), NICOLLE (P.) et CROISSANT (O.).—1947. Images électroniques de quelques bactériophages et détermination de leur taille. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 579-581. I. E.

2.348

LEPINE (P.), GIUNTINI (J.), CROISSANT (O.) et NICOLLE (P.).—1947. Application de la méthode des ombres portées par métallisation a l'étude des bactériophages au microscope électronique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 582-584. I. E.

2.349

PLOTZ (Harry). (1890-1947).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 584-586. I. E.

2.350

SOHIER (R.) et MAILLET (J.).—1947. Technique simple et rapide de diagnostic de la diphtérie par culture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 586-588. I. E.

2.351

CECCALDI (J.), PAQUIER (P.), TRINQUIER (E.), PELLISSIER (A) et VARGUES (R.).—1947. Présence en Afrique Equatoriale française d'un virus rabique des rues d'origine équine naturellement renforce. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 589-591. I. E.

2.352

MORIN (Edouard) et TURGOTTE (Héctor).—1947. Purification biologique de la lymphe vaccinale par la pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 591-593. I. E.

2.353

VINZENT (R.) et REYNES (V.).—1947. Etude d'un nouvel anaérobie: Ramibacterium dentium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 594-595.

2.354

SEIGNEURIN (R.) et ROUX (A.).—1947. Substances antibiotiques élaborées par certains champignons supérieurs. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 595-598. I. E.

2.355

WELSCH (Maurice).—1947. A propos de «centimètre cube ou millilitre». **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 598-599. I. E.

2.356

PATOCKA (F.) et REYNES (V.).—1947. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie: Leptotrichia vaginalis n. sp. **Annales de l Institut Pasteur.** 73: 559-600. I. E.

2.357

REYNES (V.).—1947. Etude d'une nouvelle espèce de Neisseria anaérobie isolée d'une vulvo-vaginite: N. vulvo-vaginitis n. sp. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 601-602. I. E.

2.358

PREVOT (A. R.) et ZIMMES-CHAVEROU (J.).—1947. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie de côte d'ivoire: Inflabilis mangenoti n. sp. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 602-604.

2.359

LE MINOR (L.), BONNEFOI (A.) et GRABAR (J.).—1947. Diagnostic biologique des infections a Salmonella. III. L'isolement des Salmonella par coproculture. Etude critique des méthodes modernes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 604-608. I. E.

2.360

LAMENSANS (A.), BOYER (F.) et Mlle. GREHIER.—1947. Récupération de la streptomicine dans les urines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 608-611 I. E.

2.361

SANCHEZ (G.), BOYER (F.), GRUMBACH (F.) et LAMENSANS (A.).—1947. Production de pénicilline par culture d'un Penicillium chrysogenum, sur des milieux a base de lacto-sérum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 612-616. I. E.

2.362

BOQUET (Alfred) (1879-1947).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 618-621. I. E.

2.363
TRILLAT (M. A.) (1861-1944).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 622-623. I. E.

2.364
JEANTET (Paul).—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 624-626. I. E.

2.365
GRABAR (Pierre) et **OUDIN (Jacques).**—1947. Etude sur le polyoside o du bacille typhique et préparation d'un sérum de lapin spécifique de ce polyoside. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 627-634. I. E.

2.366
GRABAR (Mme. J.).—1947. Diagnostic biologique des infections a *Salmonella*. IV. Technique de préparation des suspensions de bacilles d'Eberth pour la recherche des agglutinines Vi. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 635-641. I. E.

2.367
GIRARD (G.).—1947. Caractères des cultures secondaires obtenues par l'action du bactériophage sur le bacille de la peste. A propos des mutations du bacille pesteux en bacille pseudo-tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 642-649. I. E.

2.368
GALLUT (Jean).—1947. Sur l'utilisation du glucose par le vibrion cholérique en aérobiose forcée. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 650-659. I. E.

2.369
CHAUSSINAND (R.).—1947. Contribution a l'étude de la morphologie du bacille de Hansen. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 660-665. I. E.

2.370
LATARJET (Raymond) et **LURIA (Salvador).**—1947. Irradiation ultraviolette de bactériophage en cours de multiplication intra-cellulaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 666-674. I. E.

2.371
SEGRETAIN (Gabriel).—1947. Etude de la maladie expérimentale d'un lapin provoquée par un *Candida albicans* agent probable d'une mucose pulmonaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 674-677. I. E.

2.372
CHAUSSINAND (M.).—1947. Inoculation de la lèpre aux animaux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 677-682. I. E.

2.373

CHAUSSINAND (M.).—1947. La transmission en série de la lèpre humaine aux animaux n'est pas réalisable par le procédé d'Ota. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 682-684. I. E.

2.374

TISON (F.).—1947. Persistance des caractères morphologiques et biologiques des bacilles de Koch dans les produits expédiés au laboratoire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 684-687. I. E.

2.375

PREVOT (A. R.) et LAPLANCHE (J.).—1947. Etude d'une bactérie anaérobie nouvelle de Guinee Française, Cillobacterium combesi n. sp. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 687-688. I. E.

2.376

MOREL (A.), JOSSERAND (A.), ENSELME (J.) et CHENEVON (P.).—1947. Effet comparatif en milieu alcalin du fer bivalent et du fer trivalent sur l'activité d'un extrait phosphômonoesterasique provenant d'un epithelioma de l'uterus du rat (souche T 8 de Guérin). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 688-690. I. E.

2.377

AUDUREAU (Alice).—1947. Sur une substance glucidique responsable de l'agglutination de Moraxella lwoffi par les cations bi-et polyvalents. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 690-693. I. E.

2.378

LEPINE (P.) et PAVILANIS (V.).—1947. Action du diméthylbenzoylsulfamide sur le virus de la lymphogranulomatose inguinale chez la souris. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 693-694. I. E.

2.379

TCHAN (Yao-Tseng).—1947. Microbiologie du soil; une nouvelle technique de microscopie directe. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 695-696. I. E.

2.380

POCHON (Jacques) et TCHAN (Yao-Tseng).—1947. Recherches sur les phenomènes biologiques d'ammonification dans le sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 696-700. I. E.

2.381

FRILLEY (Marcel) et ROUYER (Marcel).—1947. Radiobiologie quantique. Actions biologiques comparées des photons X et UV sur les tissus et les cultures bactériennes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 700-704. I. E.

2.382

NICOLLE (Pierre).—1947. Empêchement de la bactériophagie par un antiseptique: phénoméne de l'anneau de colonies intactes en milieu contaminé par le bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 705-709. I. E.

2.383

ROMAN (E.), POULAIN (P.) et RINAUDO (E.).—1947. Action du DDT et l'hexachlorocyclohexane sur les bactéries des matières stercorales. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 709-711. I. E.

2.384

NITTI (Fredéric) (1905-1947,—1947. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 711-712. I. E.

2.385

NEGRE (L.).—1947. Etude de la virulence des bacilles tuberculeux jeunes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 713-724. I. E.

2.386

LEMOIGNE (M.), GAVARD (R.), Mme. CROSON (M.) et Mlle. LE TREIS (M.).—1947. Sur l'utilisation de l'azote nitrique par les bactéries du genre *Bacillus*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 725-734. I. E.

2.387

LWOFF (André).—1947. Sur le rôle du sérum dans le développement de *Moraxella lacunata* et de *Neisseria gonnorrhae*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 735-740. I. E.

2.388

WAHL (R.) et BLUM-EMERIQUE (L.).—1947. Action du pH sur les bactériophages C_{16} et S_{13}. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 741-748. I. E.

2.389

SCHAEFER (W.).—1947. Recherches sur la spécificité des protéides des bacilles tuberculeux et des sérums antibacilles bovins lisses au moyen d'une technique quantitative de la réaction de fixation du complément. Mise en évidence d'un antigéne spécifique du type dans les protéides des bacilles du type bovin et d'un complexe glucidoprotéidique dans les protéides des bacilles du type humain. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 749-754. I. E.

2.390

NICOLLE (Pierre) et DUCREST (Paul).—1947. La bactériophagie en milieux liquides pauvres. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 755-763. I. E.

2.391

BARANGER (P.), THOMAS (P.) et FILER (M. -K.).—1947. Action des alcaloides totaux extraits des quinquinas de Madagascar sur *P. relictum* et *P. gallinaceum*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 764-776. I. E.

2.392

RIBEREAU-GAYON (MM. J.) et PEYNAUD (E.).—1947. Sur le dosage et la chimie de l'éthanal et de ses combinaisons dans les vins et les alcools. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 777-796. I. E.

2.393

BERTRAND (Gabriel) et BERTRAND (Didier).—1947. Recherches sur le rubidium chez les cryptogames. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 797-803. I. E.

2.394

GORET (Pierre) et Mlle. YVORE (G.).—1947. Note sur le virus de Carré adsorbé sur hydroxyde d'aluminium et désséché vaccination du furet. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 804-809. I. E.

2.395

MERCHER (P.) et PILLET (J.).—1947. Adaptation du'n milieu a base de digestion papainique de viande pour la production régulière de la toxine staphylococcique avec la souche wood. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 809-811. I. E.

2.396

CHAUSSINAND (R.).—1947. Une nouvelle réaction d'allergie dans la tuberculose. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 811-814. I. E.

2.397

CHAUSSINAND (R.).—1947. Para-allergies bactériennes dans la tuberculose. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 814-815. I. E.

2.398

BONET-MAURY (P.) et DEYSINE (A.).—1947. Action de la penicilline sur le bacille tuberculeux homogène d'Arloing-Courmont. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 816-819. I. E.

2.399

SOLOMIDES (J.) et HIRSCH (A.).—1947. Sur le pouvoir bactériostatique pour le staphylocoque doré des acides gras de l'huile de foie de morue et de leurs savons. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 819-822. I. E.

2.400

LEPINE (P.), GIUNTINI (J.), CROISSANT (O.) et REINIE (L.).—1947. Microscopie électronique du virus de la lymphogranulomatose inguinale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 822-824. I. E.

2.401

LEPINE (P.) et ATHANASIU (P.).—1947. Evolution des lesions histologiques et des anticorps rabicides aux cours de l'incubation de la rage des rues. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 824-827. I. E.

2.402

LEPINE (P.) et ATHANASIU (P.).—1947. Contamination spontanée du lapin par le virus de la maladie de Borna. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 827-828. I. E.

2.403

LEGROUX (R.), JERAMEC (C.) et SECOND (L.).—1947. Destruction des toxines bactériennes par les proteases microbiennes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 828-830. I. E.

2.404

BUTTIAUX (René) et BROGNIART (Raymonde).—1947. Techniques d'isolement des staphylocoques pathogènes identification des staphylocoques entérotoxiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 830-834. I. E.

2.405

PREVOT (A. R.), COHEN (G. N.) et NISMAN (B.).—1947. Recherches sur les desaminases de Cl. bifermentans et de Cl. sordellii. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 834-836. I. E.

2.406

PREVOT (A. R.) et LAPLANCHE (J.).—1947. Influence des nitrates sur la production de gaz par W. perfringens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 836-838. I. E.

2.407

PATOCKA (F.) et PREVOT (A. R.).—1947. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie Capsularis stabilis. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 838-840. I. E.

2.408

DERVICHIAN (D. G.) et MAGNANT (C.).—1947. Contribution a l'étude du mécanisme de l'hémolyse. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 841-849. I. E.

1.409

DELAPORTE (Mlle. Berthe) et SACCAS (Athanase).—1947. Etude morphologique et cytologique de plusieurs souches de Penicillium notatum westling. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 850-862. I. E.

2.410

DELAPORTE (Mlle. Berthe) et BELVAL (Henri).—1947. Une bactérie productrice de fructosane dans le betterave gelée: Phytomonas betae-gelatae. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 862-869. I. E.

2.411

VELU (H.) et MAINIL (J.).—1947. Technique turbidimétrique appliquée au controle de la production de la pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 870-878. I. E.

2.412

BERGER (Henriette) et MACHEBOEUF (Michel).—1947. Recherches sur les complexes protéines-cuivre. IV. Le cuivre en se combinant aux protéines détache-t-il les lipides qui étaient unis a ces protéines? **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 879-881. I. E.

2.413

BERGER (Henriette) et MACHEBOEUF (Michel).—1947. Recherches sur le complexes protéines-cuivre. V. Etude des variations de pH produites par l'addition d'hydrate de cuivre a une solution de protéines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 882-884. I. E.

2.414

BLASS (Judith).—1947. Sur le métabolisme du glucose par les vibrions non proliferants. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 885-899. I. E.

2.415

GHODSSI (M.).—1947. Dix années de traitement antirabique a l'Institut Pasteur de l'Iran (Téhéran). (1936-1945.) **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 900-902. I. E.

2.416

POCHON (Jacques) et TCHAN (Yao-Tseng).—1947. Recherches sur le micro-flore aérobie de divers sols d'A. O. F. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 903-904. I. E.

2.417

SOLOMIDES (J.) et HIRSCH (A.).—1947. Etude du pouvoir bactériostatique ou bactéricide des savons des acides gras de l'huile de doie de morue pour le bacille tuberculeux, le streptocoque, le pneumocoque et quelques autres microbes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 904-906. I. E.

2.418

JOSSE (Mlle. J.).—1947. Isolement de bactériophages spécifiques pour des streptocoques lactiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 906-909. I. E.

2.419

LASFARGUES (E.) et DELAUNAY (A.).—1947. Etudes sur la cicatrisation. A propos des sérums cytotoxiques. Action d'un immunsérum (type Bogomoletz) sur la croissance des fibroblastes cultivés *in vitro*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 909-911. I. E.

2.420

BOQUET (P.), LEHOULT (Y.) et GUICHARD (A.).—1947. Technique simple pour l'observation *in vivo* des réactions vaso-motrices cutanées. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 912-914. I. E.

2.421

ROLAND (F.), Mlle. BOURBON (D.) et Mme. SZTURM (S.).—1947. Différenciation rapide des entero-bactériacées sans action sur le lactose. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 914-916. I. E.

2.422

SOHRAB (H.).—1947. Utilisation du placenta en microbiologie. I. Milieu de culture. II. Antigène pour Bordet-Wassermann. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 916-918. I. E.

2.423

SCHAEFER (W.).—1947. Recherches sur les proportions optima d'antigène et d'anticorps dans la réaction de fixation du complément. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 919-922. I. E.

2.424

CHAUCHARD (Paul), MAZOUE (Henriette) et LECOCQ (Raoul).—1947. Recherches chronaximétriques sur l'acide para-aminobenzoique et les corps a action vitaminique H. (Applications bactériologiques.) **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 922-925. I. E.

2.425

SEVIN (A.), BEERENS (H.) et SPY (Claudine).—1947. Action *in vitro* de la tyrothricine sur quelques bactéries anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 926-927. I. E.

2.426

BOQUET (A.) et ANDREJEW (A.).—1947. Sur la végetation du bacille de Koch en profondeur. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 928-929. I. E.

2.427

GRUMBACH (F.), MOUSSET (H.) et BOYER (F.).—1947. Sensibilité et accoutumance des germes a la streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 929-933. I. E.

2.428

RENKONEN (K. O.).—1947. Remarque sur les anneaux de croissance autour de cristaux acides. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 933-935. I. E.

2.429

SAISSAC (R.) et ANDRE (P.).—1947. Etude des caractères culturaux et biochimiques de *Plectridium cadaveris*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 936-936. I. E.

2.430

MONOD (Jacques) et WOLLMAN (Elie).—1947. L'inhibition de la croissance et de l'adaptation enzymatique chez les bactéries infectées par le bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 937-956. I. E.

2.431

WAHL (Robert) et LATARJET (Raymond). —1947. Inactivation de bactériophages par des radiations de grandes longueurs d'onde (3.400-6.000 A). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 957-971. I. E.

2.432

SCHAEFER (W.).—1947. Recherches sur la spécificité des anticorps antiprotéidiques des sérums antibacilles tuberculeux de type bovin lisse. Réactions spécifiques du type bovin et réactions croisées avec les protéides du type humain. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 972-979. I. E.

2.433

POLONOVSKI (J.) et MACHEBOEUF (M.).—1947. Hemolyse par les savons a cation actif. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 980-986. I. E.

2.434

WIRTH (John) et BARSKI (Georges).—1947. Cultures épithéliales pures sur membranes plastiques sans repiquages et sans plasma: préparation rapide de cultures colorables comme des frottis. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 987-1.002. I. E.

2.435

RAYNAUD (M.) et GROS (F.).—1947. Etude sur la réaction de Stickland. I. Action inhibitrice du glucose, du pyruvate et de la pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.003-1.011. I. E.

2.436

RAYNAUD (M.), NISMAN (B.) et COHEN (G. N.).—1947. Etude sur la réaction de Stickland. II. Caractères de l'action inhibitrice de la pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.012-1.014. I. E.

2.437

RYBAK (Boris).—1947. Une nouvelle methode en microbiologie végétale. Premiers résultats avec Phytomonas tumefaciens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.015-1.023. I. E.

2.438

TISON (F.).—1947. Nouveau procédé d'inoculation au cobaye des produits suspects de tuberculose après modification par contact avec la pénicilline calcique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.024-1.027. I. E.

2.439

JACOTOT (H.).—1947. Le gel d'alumine comme adjuvant du vaccin antirabique formolé. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.028-1.030. I. E.

2.440

SOHIER (R.). — 1947. Sur une nouvelle Salmonella coli (antigène O XVII de S. kirkee) et sur les conditions de son isolement. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.030-1.032. I. E.

2.441

GUELIN (A.).—1947. Inactivation du bactériophage par la dextrine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.032-1.036. I. E.

2.442

GUELIN (A.), KREGUER (A.) et LE BRIS (J.).—1947. Un enterocoque antagoniste de Clostridium perfringens type A. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.036-1.037. I. E.

2.443

KREGUER (A., GUELIN (A.) et LE BRIS (J.).—1947. Isolement d'un bactériophage actif sur le Clostridium perfringens type A. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.038-1.039. I. E.

2.444

CUZIN (J.), QUIDET (P.) et SCHWARTZ (D.).—1947. Détermination du symptome enation sur Nicotiana tabacum L. par inoculation précoce d'une souche banale de Mosaïque du Tabac. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.039-1.041. I. E.

2.445

SANDOR (G.) et SKROBISZ (C.).—1947. Une méthode de fractiónnement des sérums et classification des anticorps. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.041-1.042. I. E.

2.446

SANDOR (G.), LEMETAYER (P.) et NICOL.—1947. Distribution des antitoxines diphtérique et tétanique parmi les diverses fractions protéidiques du sérum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.043-1.044. I. E.

2.447

PREVOT (A. R.) et SANSONNENS (R.).—1947. Présence de Clostridium corallinum P. et R. au Sénégal. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.044-1.046. I. E.

2.448

PAVILANIS (V.).—1947. Isolement a Paris d'une souche du virus de la leucopenie infectieuse du chat. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.046-1.051. I. E.

2.449

MACHEBOEUF (M.) et BLASS (Judith).—1947. Quelques détails d'application de la méthode microchromatographique des aminoacides de Consden, Gordon et Martin. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.053-1.065. I. E.

2.450

BALTAZARD (M.) BAHMANYAR (M.) et MOFIDI (C.).—1947. Fièvres récurrentes transmises a la fois par ornithodores et par poux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.066-1.071. I. E.

2.451

NICOLLE (Pierre) et MIMICA (Milorad).—1947. Bactériophages et antiseptiques. Analyse du phénomène de l'anneau de culture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.072-1.081. I. E.

2.452

WOLLMAN (Elie).—1947. Essai d'analyse des besoins en tryptophanne de mutants d'*Escherichia coli*, résistants au bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.082-1.088. I. E.

2.453

LUTZ (A.).—1947. L'action de l'aneurine et de ses constituants sur deux souches de bacilles paratuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.089-1.105. I. E.

2.454

CUZIN (Jean) et SCHWARTZ (Daniel).—1947. Etudes d'épidémiologie statistique de la mosaïque du tabac. II Essai d'analyse causale du taux d'endémie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.106-1.113. I. E.

2.455

DENTICE DI ACCADIA (Filippo).—1947. Production d'acétylméthylcarbinol et de 2-3 butylène glycol par *Bacillus cereus*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.114-1.116. I. E.

2.456

SOHRAB (H.).—1947. Modification de la composition du milieu de culture pour *Penicillium notatum*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.116-1.118. I. E.

2.457

POCHON (J.), TCHAN (Y. T.), Mlle. CHALVIGNAC (M. A.) et CHALAUST (R.).—1947. Recherches sur les processus biologiques d'ammonification dans le sol. II. Ammonification et humification des terrains sableux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.118-1.121. I. E.

2.458

TCHAN (Y. T.).—1947. Etude du métabolisme carboné du sol par la microscopie directe. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.121-1.124. I. E.

2.459

PREVOT (A. R.) et PEYRE (M.).—1947. Etude de Fusiformis polymorphus (Knorr) Bergey. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.124-1.125. I. E.

2.460

PREVOT (A. R.) et SAISSAC (R.).—1947. Recherches sur la production des phénols par les bactéries anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.125-1.129. I. E.

2.461

CHABBERT (Y.) et SUREAU (B.).—1947. Microdosage clinique des antibiotiques. Adaptation a une méthode dérivée de la «Slide Cell» de la technique Glucose-P. S. P. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.130-1.132. I. E.

2.462

VIEUCHANGE (J.).—1947. Caractères anatomo-pathologiques de la poliomyélite expérimentale de la souris blanche (souche Lansing). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.133-1.135. I. E.

2.463

VIEUCHANGE (J.) et Mlle. DESCOLA (P.).—1947. Sur la réceptivité du rat du coton (Sigmodon hispidus hispidus) au virus poliomyélitique (souche Lansing). **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.135-1.136. I. E.

2.464

VIEUCHANGE (J.) et Mlle. DESCOLA (P.).—1947. Note complémentaire sur la réceptivité du singe callitriche (Aethios sabaeus) a la souche «Lansing» de virus poliomyélitique entretenue sur la souris. **Annales de l'institut Pasteur.** 73: 1.137-1.138. I. E.

2.465

GALLUT (Jean) et GRABAR (Pierre).—1947. Recherches immunochimiques sur le vibrion cholérique. V. Absence de pouvoir antigénique de la substance hypothermisante de la toxine cholérique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.139-1.142. I. E.

2.466

CHABBERT (Yves) et SUREAU (Bernard).—1947. Titrage de la streptomycine dans le sang et le liquide céphalo-rachidien. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.142-1.145. I. E.

2.467

DESAULLES (P.) et LAMY (R.).—1947. Essais de vaccination du cobaye contre la pneumopathie a partir du virus formolé et phéniqué. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.145-1.150. I. E.

2.468

FAGUET (Michel) et NICOLLE (Pierre).—1947. Inhibition de la lyse bactériophagique par la pénicilline levée de cette inhibition par la pénicillinase. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.150-1.154. I. E.

2.469

POLONOVSKI (J.) et COTONI (L.).—1947. Lyse du pneumocoque par les savons cationiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.155-1.157. I. E.

2.470

SCHAEFER (W.).—1947. Identification sérologique des bacilles tuberculeux du type bovin. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.157-1.159. I. E.

2.471

SEGRETAIN (Gabriel) et DROUHET (Edouard).—1947. Mycose expérimentale a *Torulopsis histolytica*. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.161-1.166. I. E.

2.472

SUREAU (Bernard) et BOYER (Fernand).—1947. Inhibition des agents chimiothérapiques par des substances «anti». Applications pratiques au laboratoire clinique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.167-1.172. I. E.

2.473

VELU (H.) et CHABANAS (D.).—1947. Les erreurs de mesure de la pénillinémie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.173-1.177. I. E.

2.474

SEIGNEURIN (R.).—1947. Cultures retardées par addition de sulfamide influence de l'age des germes ensemencés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.178-1.185. I. E.

2.475

BERTRAND (Gabriel).—1947. Sur une démonstration par voie biologique de l'existence du magnésium et du potassium dans l'eau de pluie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.186-1.190. I. E.

2.476

VIEUCHANGE (J.) et VIALAT (Ch.).—1947. Les vaccinations antirabiques a l'Institut Pasteur en 1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.191-1.193. I. E.

2.477

BUSSARD (A.) et EYQUEM (A.).—1947. Relations immunologiques entre les gonadotrophines choriales humaines et les substances spécifiques de groupes sanguins. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.194-1.204. I. E.

2.478

PATOCKA (F.) et LAPLANCHE (J.).—1947. Etude des caractères biochimiques de deux espèces de Spherophorus: Sph. gulosus et Sph. mortiferus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.206-1.207. I. E.

2.479

WANG (T. L.).—1947. Recherches sur le virus de la peste des lapins. **Annales de l'Institut Pasteur.** 73: 1.207-1.209. I. E.

Fotocopias en microfilm.

Microfilm negativo: cada fotograma (24 × 36 mm.), 1 peseta.

Microfilm positivo (indicado cuando hay fotograbados): cada fotograma, 2 pesetas.

Carpeta «Filmoteca» para diez filmofichas: 2 pesetas.

Mínimo pagable en todo encargo: el valor de una filmoficha, 5 pts. en negativo y 10 pts. en positivo.

A partir de 1.000 fotogramas, precios especiales por convenir.

Opciones que se presentan: en negativo o en positivo; en rollo continuo o en filmofichas; con carpeta «Filmoteca» o filmofichas sueltas; metiendo en cada fotograma dos páginas o solo una.

Salvo aviso en contrario se servirán los encargos en microfilm negativo, en filmofichas y en carpetas, y el meter una o dos páginas por fotograma se supondrá se deja al discernimiento del Servicio, según sea el original.

La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, archivación, localización rápida de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea, dos páginas cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir, autor, título y signatura en la filmoteca y en el centro de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca» especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

Formato:	9 × 12 cms.:	en mate, 3	ptas.;	con brillo,	3,75	ptas.
»	13 × 18 cms.:	en mate, 4	ptas.;	con brillo,	5,25	ptas.
»	18 × 24 cms.:	en mate, 6	ptas.;	con brillo,	8,25	ptas.
»	21 × 30 cms.:	en mate, 6,25	ptas.			
»	30 × 42 cms.:	en mate, 9,25	ptas.			

N. B. Estos precios están sujetos a cierta variación, según vengan facturadas las partidas de papel.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicación del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Bimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 100 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI.—Revista destinada a la publicación de trabajos originales de investigación agrícola y asuntos relacionados con ella. Cada volumen contiene unas trescientas páginas, distribuídas en cuatro números que se publican a intervalos irregulares.

Precio del tomo, 35 pesetas.

ANALES DEL JARDIN BOTANICO DE MADRID.—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicado a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás Centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Briología, Algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Elemplar, 30 pesetas. Suscripción, 45 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de Farmacognosia, tal como se concibe en el momento presente, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Trimestral. Ejemplar, 23 pesetas. Suscripción, 75 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan en la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.

PRECIO: 22 PESETAS